

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1934-1935

N° 250

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE TOXICOLOGIQUE
DE LA STRYCHNINE
ET DE LA BRUCINE

Travail du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène appliquée
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux

Thèse pour le Doctorat de l'Université

« Mention Pharmacie »

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 7 Janvier 1935

PAR

Edouard KERGONOU

Pharmacien Lieutenant des troupes coloniales,
Interne des hôpitaux,
Licencié ès sciences,

Lauréat de la Faculté de Médecine et de Pharmacie.
Né à Saint-Pierre-Quilbignon (Finistère),
le 9 septembre 1908.

Examineurs de la Thèse	{	MM. LABAT, professeur	Président.
		CHELIE, professeur	
		GOLSE, professeur	Juges
		VITTE, agrégé	

BORDEAUX

Imprimerie J. BIÈRE, 18-20-22, rue du Peugue

1935

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1934-1935

N° 250

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE TOXICOLOGIQUE
DE LA STRYCHNINE
ET DE LA BRUCINE

Travail du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène appliquée
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux

Thèse pour le Doctorat de l'Université

« Mention Pharmacie »

Présentée et soutenue publiquement le Lundi 7 Janvier 1935

PAR

Edouard KERGONOU

Pharmacien Lieutenant des troupes coloniales,
Interne des hôpitaux,
Licencié ès sciences,

Lauréat de la Faculté de Médecine et de Pharmacie
Né à Saint-Pierre-Quilbignon (Finistère),
le 9 septembre 1908.



Examineurs de la Thèse	{	MM. LABAT, professeur	Président.
		CHELLE, professeur	Juges
		GOLSE, professeur	
		VITTE, agrégé	

BORDEAUX

Imprimerie J. BIÈRE, 18-20-22, rue du Peugue

1935

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Doyen..... M. MAURIAC
 Assesseur..... M. LABAT
 Doyen honoraire..... M. SIGALAS

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH
 RIVIÈRE, BARTHE, DENIGES, SELLIER, BEILLE, CASSAET, CHAVANNAZ, PACHON

PROFESSEURS

MM.		MM.	
Clinique médicale	MAURIAC.	Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ROCHER
Clinique chirurgicale .. .	DUPÉRIÉ	Clinique médicale des maladies des enfants.....	CRUCHET
Clinique chirurgicale et gynécologique.....	BEGOUIN.	Chimie biologique et médicale.....	DELAUNAY
Pathologie et thérapeutique générales.....	GUYOT.	Physique médicale et pharmaceutique.....	SIGALAS.
Clinique d'accouchements.	CARLES.	Médecine coloniale et clinique des maladies exotiques.....	BONNIN
Anatomie pathologique et microscopie clinique....	ANDERODIAS.	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques....	PETGES.
Anatomie.....	SABRAZES.	Clin. des mal. des voies urinaires ..	DUVERGEY
Anatomie générale et histologie.....	VILLEMIN.	Clinique des maladies nerveuses et mentales.....	ABADIE
Hygiène.....	G. DUBREUIL.	Clinique d'Oto-rhino-laryngologie...	PORTMANN.
Médecine légale et déontologie.....	LEURET.	Toxicologie et hygiène appliquée.....	LABAT
Electroradiologie et clin. d'électricité médicale..	LANDE	Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	CREYX
Chimie.....	RÉCROU	Clinique dentaire.....	CAVALIE.
Botanique et matière médicale.....	CHEILLE.		
Pharmacie.....	GOLSE.		
Zoologie et parasitologie.	DUPOUY.		
Médecine expérimentale..	MANDOUL.		
Clinique ophtalmologique.	AUBERTIN.		
	TEULIÈRES		

LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales).
 PAPIN (Chirurgie générale). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale)

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.		MM.	
Anatomie	DUBECO.	Chirurgie générale.....	} CHARRIER. LOUBAT.
Anatomie.....	DUFOUR.	Obstétrique	
Physiologie.....	FABRE.	Ophthalmologie	BEAUVIEUX
		Oto-Rhino-Laryngologie	DESJONS
Médecine générale.....	} DAMADE. PIECHAUD. DELMAS-MARSALET. DE GRAILLY FONTAN	Dermatologie et syphiligraphie.....	JOULIA.
		Physique médicale.....	WANGERMEZ
		Chimie générale pharmaceutique et toxicologie...	VITTE.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

MM.		MM.	
Physiologie	FABRE	Ophtalmologie	CABANNES (en congé)
Médecine opératoire	PAPIN	Puériculture	FAUGERE
Accouchements	PERY.	Pharmacie chimique	VITTE
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes MM. N			

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A TOUS LES MIENS

A MES CAMARADES DU CORPS DE SANTE DES TROUPES
COLONIALES, DU CORPS DE SANTE DE LA MARINE
ET DE L'INTERNAT

A MES AMIS

A MES MAITRES

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CHELLE

PROFESSEUR DE CHIMIE
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

A MONIEUR LE PROFESSEUR DUPOUY

PROFESSEUR DE PHARMACIE
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GOLSE

PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET MATIÈRE MÉDICALE
PHARMACIEN DES HOPITAUX
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ VITTE

CHARGÉ DE COURS COMPLÉMENTAIRES DE DÉMONSTRATION
ET PRÉPARATIONS PHARMACEUTIQUES
PHARMACIEN DES HOPITAUX

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR LABAT

PROFESSEUR DE TOXICOLOGIE ET HYGIÈNE APPLIQUÉE
PHARMACIEN-CHEF DES HOPITAUX
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

Cher Maître,

Je vous dois ma formation scientifique, je me rappelle avec quel soin vous m'avez initié aux analyses biologiques lorsque je suis arrivé interne. Pendant trois années, passées au laboratoire de l'hôpital du Tondu et au laboratoire de toxicologie et d'hygiène appliquée de la faculté, vous n'avez cessé de me prodiguer vos conseils. Je suis heureux de vous témoigner aujourd'hui ma profonde reconnaissance.

ERRATA

Il faut lire :

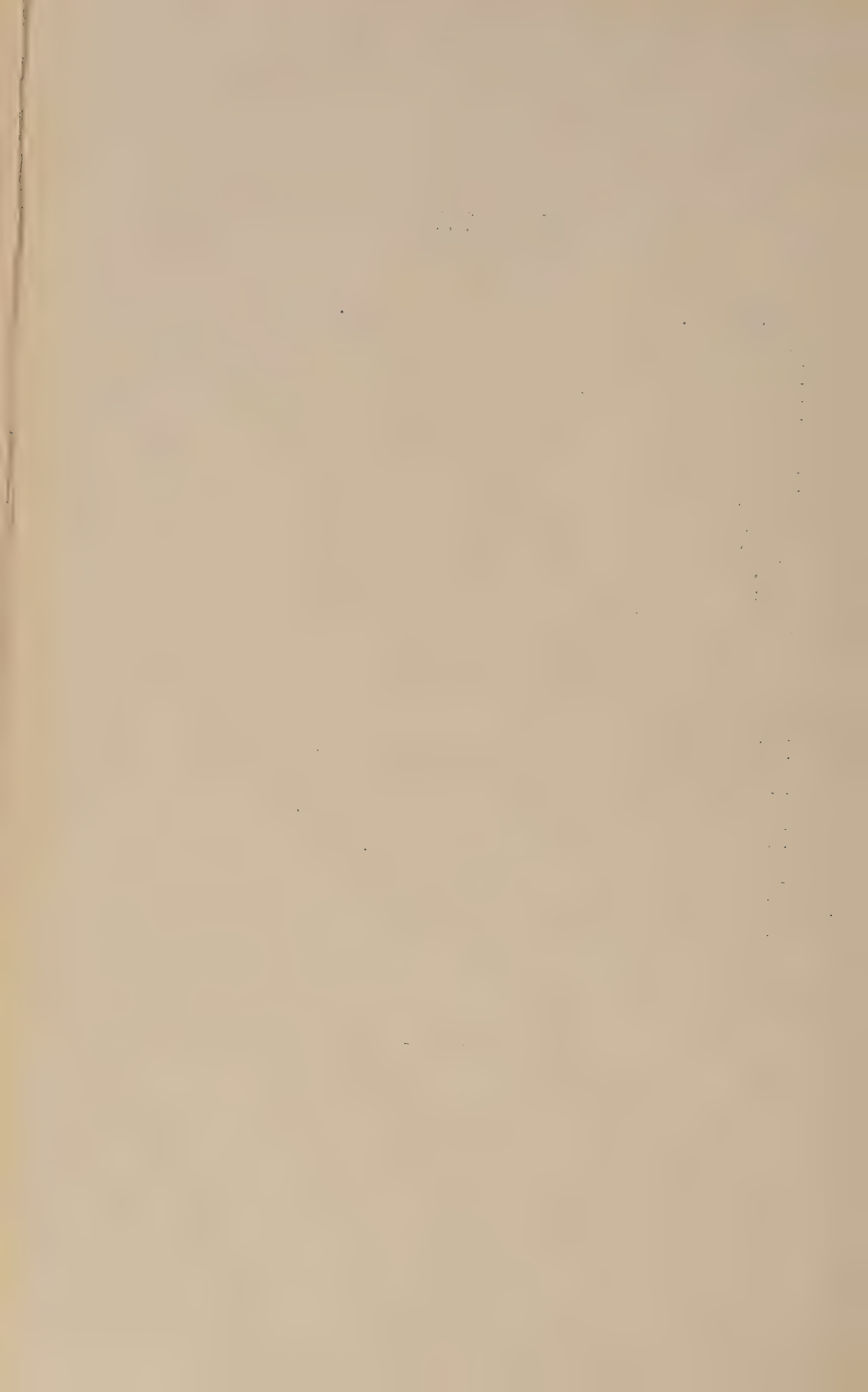
- P. 10 méthodes
- 15, qui eut un certain
- 18, démontrer
- 22, phospho-antimonique
- 26, solanine
- 35, grenaille
- 44, devenant
- 50, des cristaux
- 52, Lorain
- 54, quantités
- 58 (tableau, n° 7) prise d'essai
- 62, (note) dans le dernier cas
- 66, essais
- 80, 0,0006 et 0,003 mg.
- 84, (tableau n° 14, 5^e colonne) brucine injectée en mg.
- 85, 10⁻⁵
- 88, 0 g. 0008
- 93, 0,006 mg.
- 100, strychnine (tableau n° 15)
- 101, d'un foie
- 103, Erdmann
- 105, adsorption
- 109, utilité
- 111, chloroformique
- 112, protéolytiques
- 119, nous avons
- 135, tableau n° 22
- 144, (tableau 26 exp. n° 4) Taux d'extraction de la brucine 54 p. 100
- 153, tout
- 159, page 59
- 160, page 59
- 174, Flandin

au lieu de :

méthodes
eut un certain
démontre
phospho-antimonieux
solanine
grenailles
devenant
cristaux des
Lorain
quantité
prix d'essai
dans ce cas
assais
0,6 et 3 g.

brucine par kg.
10⁵
0 g. 008
0,006 g.
strychnine
d'une foie
Erdmannet
absorption
utilité
chloroformiqu
protélytiques
nous avons
tableau n° 23

52 p. 100
tot
page 57
page 60
Flandrin



AVANT-PROPOS

Les réactions hydrostrychniques si bien mises au point, par Denigès, ont été utilisées par François (37) pour l'essai des médicaments contenant de la strychnine; en revanche il ne semble pas que les toxicologues en aient tiré le parti qu'elles méritent, la plupart observent même à leur sujet un silence complet. Lobo (71) s'en est servi dans sa thèse, de façon presque accessoire, et au même moment où de notre côté nous avions mené déjà très loin le présent travail.

Il nous a donc paru intéressant d'étudier les services que pourraient rendre ces réactions en toxicologie. Comme le succès a répondu à nos efforts et qu'il nous a permis de caractériser et de doser avec précision même des traces de strychnine contenues dans des viscères ou des liquides de l'organisme, nous en avons profité pour reprendre l'étude toxicologique de cet alcaloïde.

Nous avons voulu faire une sorte de revue des principaux travaux publiés jusqu'ici sur sa toxicité, sur sa diagnose et son dosage, sur son élimination, sur son extraction des viscères et des liquides de l'organisme, sur sa résistance à la putréfaction. A cette revue nous avons ajouté des expériences personnelles destinées à contrôler les résultats de nos devanciers, à modifier les techniques anciennes ou à en créer de nouvelles.

Non seulement nous avons expérimenté sur l'animal, mais nous avons pu opérer sur des organes humains, l'habitude funeste du barbiturisme et surtout les accidents toxiques graves qui en sont la conséquence obligent à employer un traitement strychnique intensif et offrent ainsi dans quelques cas un champ d'expériences au toxicologue.

Nous ne pouvions pas faire ce travail sans nous préoccuper de la brucine qu'on trouve si souvent dans les drogues à côté de la strychnine.

On pourra peut-être nous reprocher d'avoir décrit trop longuement beaucoup de techniques que nous n'avons pas jugées dignes d'être retenues; nous l'avons fait volontairement afin de réunir sur la strychnine tout ce que nous avons pu trouver dans la littérature concernant le point limité qui nous intéresse; nous n'avons pas la prétention d'y avoir complètement réussi et de n'avoir rien oublié. Nous avons voulu donner assez de détails pour que le lecteur ne soit pas obligé de se rapporter aux travaux originaux antérieurs, pour y retrouver les techniques que nous avons critiquées ou même rejetées.

Notre travail se divise comme suit :

Introduction : I. Généralités sur la strychnine et quelques Strychnées.

II. Historique des empoisonnements par la strychnine.

III. Dose mortelle de strychnine.

Chapitre premier : I. Les réactions chimiques de la strychnine.

II. Les réactions microchimiques de la strychnine.

III. Dosage de la strychnine en toxicologie.

IV. Extraction de la strychnine de ses solutions.

Chapitre II : I. Réactions de la brucine.

II. Dosage de la brucine.

Chapitre III : Expérimentation physiologique.

I. La Grenouille réactif biologique de la strychnine.

II. Action de la strychnine sur les poissons.

III. Action de la strychnine sur la Souris blanche.

Chapitre IV : Procédés d'extraction de la strychnine en toxicologie.

Chapitre V : I. Méthodes de purification des résidus obtenus par les méthodes d'extraction.

II. Recherches personnelles.

III. Application de la méthode de purification proposée à la recherche de la strychnine dans l'urine.

Chapitre VI : I. Absorption et élimination de la strychnine.

II. Valeur comparée de la méthode de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest et de celles de Florence et de Husemann.

III. Résistance de la strychnine à la putréfaction.

IV. Recherche de la strychnine en toxicologie.

INTRODUCTION

I. GENERALITES SUR LA STRYCHNINE ET QUELQUES STRYCHNEES

C'est en 1818 que Pelletier et Caventou (87) (88), appliquant à la fève de Saint-Ignace et à la noix vomique les recherches de Sertuerner sur l'opium, mirent en évidence la strychnine; l'année suivante, ils découvraient la brucine dans l'écorce de fausse angusture.

Caractères de la strychnine.

Nous insisterons seulement sur les quelques propriétés que nous avons mises à profit au cours de ce travail. La strychnine est peu soluble dans l'eau : une partie de strychnine se dissout dans 6.667 parties d'eau à 10°; elle est insoluble dans l'alcool absolu (Merk); l'alcool à 95° en dissout 0,936 p. 100 (Dragendorff); l'alcool à 90° en solubilise 0,624 p. 100 (Gadreau) à 20° et l'alcool à 49°, 0,415 p. 100 (Wittstein). Les solutions obtenues présentent une grande amertume qui est encore nettement perceptible avec une solution aqueuse à 1 pour 600.000.

La strychnine résiste bien à l'action de la chaleur; elle fond à 284° et commence à se décomposer à 315° (Le Méhauté).

Teneur en alcaloïdes de quelques strychnées

Strychnos nux vomica qui croît surtout en Asie tropicale, dans l'Inde, sur les côtes de Coromandel et de Malabar, à Ceylan, à Java, au Siam, en Cochinchine, est le grand producteur de strychnine (96).

Son écorce renferme 0,3 à 0,5 p. 100 de strychnine et 1,6 à

2,5 p. 100 de brucine. L'épiderme de la tige et des feuilles est exempt de strychnine, mais il y a un peu de brucine dans le parenchyme foliaire et le liber des vaisseaux. On admet en général que les proportions de brucine et de strychnine sont voisines dans la noix vomique. En réalité la composition varie dans d'assez grandes limites suivant la provenance des échantillons. Fluckiger a trouvé 1,26 p. 100 d'alcaloïdes totaux dont 0,727 p. 100 de brucine et 0,534 p. 100 de strychnine. Schafer opérant sur d'autres échantillons a isolé 0,73 p. 100 à 1,54 p. 100 de strychnine et 1,12 à 2,23 p. 100 de brucine (96).

L'embryon ne renfermerait que de la brucine, qui se transforme en strychnine pendant la germination.

La fève de Saint-Ignace est plus riche en strychnine (1,5 à 2,8 p. 100) qu'en brucine (0,5 à 1,47 p. 100).

Strychnos guianensis contient des traces de strychnine et de brucine; *Strychnos aculeata*, *Strychnos quaqua*, renferment un peu de brucine mais pas de strychnine. *Strychnos cinnamomifolia* ne fournit que des traces de strychnine et une forte proportion de brucine, 2,231 p. 100. *Strychnos colubrina* et le bois de couleuvre de Malabar, ou *Strychnos Rheedii* Clark sont pauvres en alcaloïdes (96).

Le M'Boundou.

La matière première qui sert aux empoisonnements en Europe, est presque toujours le sulfate de strychnine. En Afrique au contraire, les breuvages destinés aux ordalies sont préparés directement à partir d'une strychnée, le *m'boundou* ou *Strychnos icaia*. Il est intéressant de connaître les caractères de cette plante qui a produit la mort de tant d'hommes. Voici la description qu'en donne Baillon (4) :

« Le *m'boundou* est un arbuste qui croît de préférence à la lisière des bois et des terrains inondés. Sa hauteur moyenne est de 2 m. à 2 m. 50. Les feuilles sont grandes, entières, opposées, terminales, par paires, ovales, lancéolées, à pointe assez longue. Leur nervation est fort simple et très remarquable :

trois fortes nervures partent du pétiole pour venir se réunir au sommet de la feuille; entre elles courent les veines et les veinules s'anastomosant en tout sens. La racine est longue, pivotante, noueuse, d'une odeur faible se développant par le frottement, de saveur amère et désagréable, recouverte d'une écorce mince, rouge sale dans les couches les plus externes et rouge vif dans les parties profondes. C'est cette écorce qui sert aux naturels du Gabon à préparer leur « liqueur d'épreuve ». Elle renferme uniquement de la strychnine.

Jouant un grand rôle dans la vie des peuplades africaines, le *m'boundou* est l'objet de beaucoup de superstitions. Les indigènes disent qu'ils est impossible de se procurer cette plante la nuit; alors elle n'habite plus la forêt et surveille les sorciers et les voleurs; elle voit les desseins les plus cachés. A l'aurore, elle reprend sa place dans la forêt et perd toute puissance, ce qui permet de l'arracher.

Le Légèn (43).

Dans d'autres contrées, les indigènes utilisent non plus les strychnées, mais des insectes vivant sur ces plantes et dont le corps et les excréments sont riches en strychnine. C'est ainsi que le docteur Groneman a signalé deux cas d'empoisonnements mortels survenus à Jogjakarta (Java) par l'emploi d'une substance connue des indigènes sous le nom de *légèn* et composée surtout des excréments d'un scarabée, le *dendang*, qui se nourrit sur des Strychnées. Le *légèn* est utilisé comme aphrodisiaque et pour guérir la paralysie des muscles, les *dendangs* comme diurétiques.

II. HISTORIQUE DES EMPOISONNEMENTS PAR LA STRYCHNINE

Les empoisonnements par la strychnine ont été rares jusqu'en 1855, date à laquelle le procès de Palmer (109 et 110) passionna vivement l'opinion en Angleterre et fut en même temps le point de départ d'acquisitions nouvelles concernant la toxicologie de cet alcaloïde. En 1857, Tardieu (109) en France, fit paraître un mémoire sur l'empoisonnement par la strychnine, contenant la relation médico-légale complète de l'affaire Palmer; il cite 16 observations d'empoisonnement par la strychnine ou la noix vomique. Gallard (40) en 1862, lut à l'Académie impériale de médecine un mémoire intitulé *De l'empoisonnement par la strychnine*. Il apportait de nouvelles observations et s'efforçait d'établir une thérapeutique. C'est surtout en Angleterre que la strychnine était utilisée vers 1862 et Gallard pouvait écrire : « En ce moment, les empoisonnements par la strychnine y sont en faveur et cela grâce à la propagation d'une mort-aux-rats (*Battle's vermin killer*) que chacun peut, pour une pièce de monnaie, se procurer chez le premier épiciers venu et dans la composition de laquelle entre la strychnine. » D'après l'analyse de Mayet (40), un paquet de cette mort-aux-rats renfermait :

Strychnine pure.....	0 g. 10
Bleu de Prusse	0 g. 20
Fécule de pomme de terre ,.....	1 g.

En France le premier empoisonnement criminel par la strychnine eut un certain retentissement date de 1865 (affaire Pégard) (110); depuis il y a eu l'affaire Toulza dit Rapala en 1878 (8); l'empoisonnement de Joséphine Sarda par Rouan en 1888 (69 *bis*); l'affaire Marthe Hayet en 1890 (41).

Saint Clair Gray (68) a réuni dans le numéro de février 1871 du *Glasgow medical journal*, 143 cas d'empoisonnement par la strychnine où il a surtout voulu mettre en évidence les symptômes caractéristiques. Les chiffres suivants, sont extraits de la statistique générale du professeur Lacassagne, pour la France :

<i>Périodes</i>	<i>Empoisonnements par la strychnine</i>	<i>Empoisonnements par la noix vomique</i>
1840-45.....	—	3
1845-50.....	—	7
1850-55.....	—	—
1855-60.....	—	2
1860-65.....	4	—
1865-70.....	4	1
1875-80.....	1	—
1880-85.....	5	—

En 1888, Le Mébauté (68) a réuni dans sa thèse 120 cas d'empoisonnement par la strychnine, qui ont eu lieu pour la plupart en Angleterre et dont 69 ont été mortels. L'expertise chimique fut pratiquée 31 fois et 6 fois elle fut négative, en particulier dans l'affaire Palmer et l'affaire Toulza dit Rapala. Les accusés ont été tout de même condamnés dans ces deux cas, les symptômes présentés par les victimes ayant été caractéristiques. Les cas décrits comportent notamment :

- 14 crimes;
- 33 accidents;
- 16 erreurs pharmaceutiques;
- 55 suicides.

Trois des empoisonnements accidentels sont survenus chez des enfants à la mamelle, dont la mère était traitée par la strychnine. La mère, dans aucun cas, n'a présenté les symptômes du strychnisme et le tremblement des enfants a disparu lorsqu'on a cessé le traitement de la mère. L'extrême amertume de la strychnine aurait été utilisée par certains

brasseurs, peu scrupuleux, pour la substituer au houblon; on n'a pourtant signalé aucun empoisonnement provenant de cette falsification.

En 1903, les morts dues à la strychnine et à la noix vomique étaient encore assez nombreuses en Angleterre; on a enregistré pour cette année seulement, 8 intoxications accidentelles et 11 suicides (104); en 1905, dans ce même pays (105), il y a eu 15 suicides par la strychnine. Dans la statistique des empoisonnements aigus en Allemagne (31 *ter*), on en trouve 1 par la strychnine en 1925, 7 en 1926 et 1 en 1927. D'une façon générale, la noix vomique et la strychnine viennent après l'opium et la morphine dans la statistique des empoisonnements aigus, imputables aux drogues à alcaloïdes; pour les années 1925, 1926 et 1927, ces derniers ont été de 5, 15 et 10 pour l'opium et la morphine, en Allemagne.

A côté des cas précédents, il y a beaucoup de morts dues à la strychnine et qui ne font l'objet d'aucune statistique, ce sont celles qui sont produites par certaines armes empoisonnées et par les poisons d'épreuve.

La strychnine dans les poisons de flèches.

Plusieurs auteurs indiquent que, contrairement aux indigènes de l'Amérique et de l'Asie, ceux d'Afrique n'emploient presque jamais les Strychnées pour leurs traits et les réservent pour leurs ordalies.

Upas tieuté, dont le principe actif est la strychnine, sert à enduire les flèches des indigènes de Java et de Bornéo; la racine du *loké*, Strychnée grimpante des îles Vanikoro et des Nouvelles-Hébrides, sert à préparer un extrait sirupeux pour enduire les flèches.

La strychnine dans les poisons d'épreuve.

D'après Vogt (115), le féticheur possède encore une influence considérable sur le nègre : il impose les épreuves du poison qui équivalent aux fameux « Jugements de Dieu » de nos ancêtres.

Le principe actif du *m'boundou*, appelé aussi *boundou bondou*, *caja*, *icaja*, *n'caja*, *encaja*, *n'kasa* ou *nk'assa*, est la strychnine. L'épreuve du *m'boundou* varie avec les tribus; chez les *Gallois* et les *Inenga* sitôt qu'une accusation de sorcellerie est portée, le féticheur s'en va dans le bois où il sait trouver le *m'boundou*.

« La plante est arrachée, sa racine coupée est raclée avec soin, de façon à en détacher complètement l'écorce externe. Une poignée de cette poudre est mise à macérer dans près d'un litre d'eau. Quand la liqueur a pris une teinte rougeâtre le poison est prêt. Le féticheur trace alors une raie sur le sable, à dix pas devant le patient, auquel il tend ensuite la coupe remplie de *m'boundou*. Celui-ci doit l'avaler d'un trait, puis à un signe du féticheur se mettre en marche. Déjà le poison commence à produire son effet... la figure se contracte et une torpeur invincible s'empare de l'accusé. Et cependant, il rassemble toute son énergie dans un suprême effort et cherche à marcher en avant, car malheur à lui s'il tombe avant d'avoir franchi cette raie tracée sur le sable par le grand féticheur : sa culpabilité sera prouvée... » (80).

Sur les rives du Como, l'accusé est amené devant la case du chef et le féticheur lui présente le *m'boundou* qu'il doit avaler d'un trait au bruit du tam-tam et d'incantations magiques de la foule. Lorsque le malheureux commence à chanceler, il est invité à franchir deux fois un bâton que le féticheur tient à 50 cm. du sol environ, s'il tombe il est déclaré coupable.

« Quelquefois, il arrive qu'une violente émission d'urine termine la première partie de cette scène, elle est alors un signe certain de l'innocence du malheureux soumis à cette épreuve. D'autres fois encore, le patient après avoir été comme subitement frappé de mort, revient lentement à la vie et cette résurrection est attribuée à la divinité jalouse de démontrer l'innocence » (112).

Strychnos kipapa serait l'élément principal du poison *Kipapa*, utilisé aux environs de Moukengé. Cette strychnée

entre également dans le poison *cipua-apua* utilisé par les Babingi au Congo belge.

D'après ee Nabias et Dupouy (20), la Strychnée qui fournit le poison d'épreuve *Bengué* utilisé dans la région de Bangassou, dans le Haut-Oubanghi, serait voisine de *Strychnos Icaja*.

III. DOSE MORTELLE DE STRYCHNINE

D'après Gallard (40), la dose de strychnine suffisante pour produire la mort est comprise entre 1 et 5 centigrammes. Le Docteur Duriau (40) cite le cas d'une femme de 38 ans, affectée de paralysie, traitée par le sulfate de strychnine et qui en prend un centigramme un jour au lieu de un milligramme; elle a présenté des spasmes tétaniques et sa santé a été gravement compromise. Une dose de 25 milligrammes a suffi pour faire périr un médecin en 20 minutes, 10 milligrammes pris en deux fois à 24 heures d'intervalle ont empoisonné un enfant de 12 ans (40).

Par contre, d'après M. Devergie, une malade aurait pris 35 centigrammes de strychnine sans le moindre dommage; Tardieu et Gallard manifestent une réserve prudente à ce sujet. Leube et Rosenthal ont fait connaître le cas d'une paralytique qui aurait absorbé 4g.20 de strychnine en deux mois, sans présenter d'accidents graves (40).

Dans certaines maladies, l'organisme a une résistance considérable à cet alcaloïde, c'est ainsi que Trousseau a pu arriver à des doses de 5, 6 et même 7 centigrammes de strychnine par 24 heures chez des enfants atteints de chorée. Dans ce cas, l'alcaloïde est administré sous forme de sirop contenant 0g.50 de sulfate de strychnine par litre; il est donné par cuillerées toutes les heures jusqu'à apparition de raideur dans les muscles du tronc, des membres et du cou. Gallard a enregistré deux cas de mort survenus chez des enfants traités de cette façon.

Quoi qu'il en soit, la dose maxima de sulfate de strychnine à administrer en 24 heures est de 18 milligrammes. A notre avis, cette dose doit être rarement atteinte, car, au delà, on risque des accidents graves, voire mortels.

Certains médicaments ont un antagonisme marqué pour cet alcaloïde : l'alcool, la picrotoxine, les barbituriques ; une thérapeutique récente utilise des doses parfois énormes de strychnine dans l'empoisonnement aigu par les barbituriques (7,9,11.)

CHAPITRE PREMIER

I. LES RÉACTIONS CHIMIQUES DE LA STRYCHNINE

Les réactions analytiques de la strychnine sont assez nombreuses; on peut les classer en plusieurs groupes.

A. Réactions de précipitation

1° *Par les réactifs généraux des alcaloïdes.*

Nous indiquerons les limites de précipitation des plus sensibles de ces réactifs. Leurs différentes formules sont exposées en détail dans la thèse de Lefebvre (66).

Réactif de Scheibler (acide phosphotungstique) précipite encore une solution de strychnine à 1 p. 200.000

Réactif de Mayer, à 1 p. 150.000
(iodure double de mercure et de potassium)

Réactif de Bouchardat, à 1 p. 100.000
(iodure de potassium iodé)

Réactif de Dragendorff, à, 1 p. 50.000
(iodure double de potassium et de bismuth)

Réactif de Schultze, à 1 p. 25.000
(acide phospho-antimonieux)

Réactif de Marmé, à 1 p. 10.000
(iodure double de potassium et de cadmium)

D'après Mayer (81), la strychnine est, après la quinine,

l'alkaloïde le plus facilement précipité par l'iodure double de potassium et de mercure.

2° *Par les chromates de potassium*

Les solutions de strychnine donnent un précipité jaune par addition de chromate de potassium. Cette réaction préconisée par Horsley (52) manque de sensibilité.

Le dichromate de potassium précipite également la strychnine de ses solutions et il apparaît des cristaux jaunes au bout d'un certain temps.

3° *Par le chlorure de mercure II.*

Ce sel produit dans la solution à 1 pour 500 de strychnine, un précipité amorphe, devenant cristallin.

4° *par le sulfocyanate de potassium.*

Le sulfocyanate de potassium donne avec les solutions de strychnine un précipité d'abord pulvérulent qui se transforme en aiguilles allongées.

5° *par les halogènes :*

a) *par le chlore.*— Lorsque l'on fait passer un courant de chlore dans une solution de strychnine, il se produit un précipité blanc. La trichlorostrychnine qui prend naissance est soluble dans l'éther et par évaporation lente du solvant, on peut l'obtenir cristallisée. Ce corps donne une coloration rouge avec l'acide sulfurique contenant des traces d'acide nitrique. Tardieu, Lorain et Roussin ont utilisé cette réaction dans l'affaire Grisard (110).

b) *par le brome.*— Le brome agit comme le chlore. Pour l'application de cette réaction, on peut se servir de l'eau bromée.

B. Réactions colorées de la strychnine.

Par ébullition avec l'acide chlorhydrique officinal, la strychnine se dissout sans se colorer, mais si on ajoute une trace

d'acide nitrique, il se produit aussitôt une coloration jaune passant bientôt au rouge sang.

A. Réactions obtenues en faisant agir l'acide sulfurique concentré et un oxydant.

Ces réactions sont nombreuses et on les utilise fréquemment en toxicologie. On observe en général une coloration violette extrêmement fugace passant au rouge, puis au jaune.

1^o Réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium.

Parmi les oxydants employés, le dichromate de potassium vient en première ligne. Son usage aurait été préconisé par Otto, en réalité Lefort (67) l'a conseillé avant Otto (86); Lewis Thomson recommanda aussi le dichromate de potassium mais après Otto. Ce dernier auteur a donné une technique précise, c'est pourquoi on lui attribue sans doute la paternité de cette réaction.

Technique d'Otto (86).

Quelques gouttes de la solution chloroformique de strychnine sont évaporées sur un verre de montre. On recouvre le résidu d'une goutte de solution étendue de dichromate de potassium, on évapore à sec. Dans certains cas, le résidu est amorphe, souvent il est constitué de cristaux jaunes. On ajoute alors une goutte d'acide sulfurique exempt d'acide nitrique. Il se produit une coloration bleu violacée foncée fugace, devenant violette puis rouge cerise.

Technique de Fluckiger (34).

Réactif : dissoudre 0 g. 01 de chromate de potassium dans 5 cm³ d'eau, ajouter 15 grammes (ou 8 cm³ 15) d'acide sulfurique de densité 1,84 à 15°.

Mode opératoire : on mélange le résidu à examiner avec le réactif sur une plaque de porcelaine et on observe une coloration bleue si la strychnine est présente. Si on a affaire à un mélange de strychnine et de brucine à poids égaux, on obtient

une coloration rouge, due à cette dernière. L'essai ne réussit que lorsqu'il y a dix fois plus de strychnine que de brucine. Chapuis est également de cette opinion.

Technique de Denigès (23).

Réactif : solution à 5 p. 100 de dichromate de potassium : 1 cm³ ;
acide sulfurique pur : 25 cm³.

Le résidu est mélangé avec une goutte de réactif et on observe les colorations précédemment décrites.

On emploie fréquemment le mode opératoire suivant : le résidu est dissous dans une goutte d'acide sulfurique pur et on ajoute une parcelle de dichromate de potassium que l'on promène à la surface de la goutte à l'aide d'un agitateur effilé. On peut s'aider d'une loupe pour voir avec plus de netteté les stries bleuâtres qui prennent naissance. Dragendorff avait conseillé de remplacer l'acide concentré par l'acide bihydraté ($\text{So}^4\text{H}^2 + 2\text{H}^2\text{O}$), Ward et Munch (117) se sont servi de cette technique. Ils ne considèrent la réaction comme positive que si la gamme suivante est obtenue : violet, pourpre, bleu, rouge brun et gris, en dernier lieu.

Quelle que soit la technique choisie, la réaction devra se faire sur un résidu refroidi, la chaleur gênant le développement de la coloration violette.

Sensibilité.

La plupart des auteurs ont admis 0 mg. 001 comme limite de sensibilité de cette réaction (Graham, Hoffmann, de Vry, Van der Burgh, Koll). Colin et Guérin n'ont pas obtenu une réaction positive avec une quantité aussi minime de strychnine.

G. Guérin (45) a prétendu que la réaction était négative avec 0 mg. 01.

Causes d'erreurs.

a) *dues aux acides étrangers.* — Il sera bon de faire la réac-

tion sur l'alcaloïde en nature; un excès d'acide nitrique ou d'acide chlorhydrique peut entraver la réaction (Dragendorff) (28).

b) *dues aux matières organiques.* — Les matières organiques, même en petite quantité, nuisent à la netteté de la réaction : elles s'oxydent au contact du dichromate de potassium et de l'acide sulfurique et donnent une coloration verte (formation de sulfate de chrome).

c) *dues aux alcaloïdes étrangers.* — La yohimbine, la solamine, la québrachine, la picrotoxine, produisent aussi des stries violettes, mais ne virant pas au bleu. La narcéïne fournit une teinte brune d'abord puis violette et enfin orangée.

Mühe (82 *bis*) et M. E. Filippi (32), ont montré que, dans un mélange de sulfate de quinine et de nitrate de strychnine dans lequel domine la quinine, on ne peut pas obtenir nettement la réaction précédente. Ils conseillent dans ce cas, de précipiter la quinine sous forme de tartrate à l'aide du sel de Seignette et de rechercher la strychnine dans le filtrat.

La morphine gêne aussi la réaction, Reese (14) a pu déceler 0 mg.02 de strychnine dans un mélange à parties égales de strychnine et de morphine et 2 mg. seulement, lorsque la proportion de morphine était 20 fois supérieure à celle de strychnine; soit une sensibilité 2.000 fois plus faible que dans le cas de la strychnine pure.

d) *dues aux ptomaïnes.* — Dragendorff (20) a signalé qu'il existe parfois dans les organes anciens une ptomaïne présentant la réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium. Kohn Abrest (85) cite un cas où il a rencontré cette ptomaïne. Mecke (81 *bis*) a extrait une ptomaïne découverte par Amthor et qui présente aussi cette réaction, mais qui se différencie de la strychnine par les caractères suivants : elle est moins amère que la strychnine, elle n'est pas toxique pour la grenouille.

Les propriétés suivantes permettent aussi de les distinguer :

L'acide sulfurique pur { donne une coloration rouge avec
la ptomaïne en question, et rien
avec la strychnine.

Le chlore donne { un précipité blanc jaunâtre avec les solutions de strychnine,
un précipité vert sale avec la ptomaïne en question.

Le réactif de Froehde { ne donne rien avec la strychnine
la ptomaïne donne une coloration violette, passant au vert.

En dehors des causes d'erreurs précédentes, il faut remarquer que l'aniline fournit une teinte bleue avec l'acide sulfurique et le dichromate de potassium. Mais on peut différencier aisément l'aniline de la strychnine, la coloration obtenue avec cette dernière nécessitant la présence d'acide concentré et l'aniline fournissant encore une réaction positive avec l'acide sulfurique monohydraté étendu de cinq parties d'eau; d'autre part, la coloration produite par l'aniline est stable.

L'acélanilide, la phénylhydrazine produisent une coloration intense, voisine de celle que présente la strychnine.

Technique d'Horsley (52).

Pour éviter les causes d'erreurs énumérées, *Horsley* a préconisé le mode opératoire suivant :

La solution aqueuse contenant la strychnine est additionnée de chromate de potassium en solution dans de l'eau. Le précipité de chromate de strychnine est recueilli dans une capsule de porcelaine et on ajoute une goutte d'acide sulfurique pur. La morphine ne gêne pas dans ces conditions.

2° Réaction à l'acide sulfurique et au bioxyde de plomb.

Marchand (78) faisait agir l'oxyde puce de plomb et l'acide sulfurique contenant 1 p. 100 d'acide nitrique sur le résidu présumé contenir de la strychnine. Lefort, en supprimant l'acide nitrique, obtint une coloration violette plus stable qui lui permit de caractériser des quantités de strychnine de l'ordre de 0 mg. 05. Colin indiqua que l'on pouvait remplacer le bioxyde de plomb par celui de manganèse. Dans ce cas, la coloration finale est rouge jaunâtre et persiste par addition de 4 à 6 volumes d'eau distillée.

3° *Réaction à l'acide sulfurique et au permanganate de potassium* (68) et (118).

Dans la pratique de cette réaction, on peut se servir d'acide sulfurique et de cristaux de permanganate de potassium. Mais le plus souvent on a recours à un réactif tout préparé dont la formule donnée par Wenzell est la suivante :

permanganate de potassium : 1 gramme ;
acide sulfurique pur : 200 grammes.

Le réactif est vert olive foncé, on doit le conserver en flacons bien bouchés.

Mode opératoire. — Le liquide contenant l'alcaloïde est évaporé au bain-marie dans une verre de montre ou une capsule de porcelaine. On attend le complet refroidissement, la réaction réussissant très mal à chaud.

La coloration violette caractéristique n'apparaît pas immédiatement après l'addition d'une goutte de réactif à l'aide d'un agitateur effilé, un intervalle de temps de trois à quatre secondes est nécessaire. La teinte vire ensuite au rose, mais plus lentement qu'avec les autres réactifs et elle est très stable.

En opérant ainsi, on peut mettre en évidence 0 mg.01 de strychnine d'après G. Guérin ; Colin a obtenu une réaction positive avec 0 mg.001 de sulfate de strychnine correspondant à 0 mg. 0008 de strychnine base.

Dans l'affaire du Pont-de-Beauvoisin, Crolas a utilisé cette réaction de la façon suivante, dans l'examen du résidu d'extraction fourni par le contenu stomacal : la solution chloroformique a été évaporée sur trois soucoupes et deux d'entre elles furent traitées de la manière qui va être décrite : « Nous avons versé de l'acide sulfurique pur, puis au moyen d'un agitateur en verre, nous avons promené de petits cristaux de permanganate de potassium ; ceux-ci ont coloré de suite l'acide sulfurique en bleu, d'une façon très nette, bleu qui a passé au violet et s'est dégradé peu à peu et enfin a disparu. Comme

contrôle, nous avons procédé de la même manière dans une soucoupe identique avec de l'acide sulfurique et du permanganate de potassium, mais nous n'avons obtenu que des traînées vert pré, teinte très éloignée de la première et ne pouvant être confondue avec elle » (68).

Causes d'erreurs. — Pour obtenir la réaction ci-dessus, les résidus contenant la strychnine doivent être privés d'alcaloïdes étrangers et de matières organiques. Les acides tartriques et citrique, leurs sels, les sulfocyanates donnent aussi une coloration bleu violet au contact du réactif de Wenzell, mais elle est moins persistante (44).

4° *Réaction à l'acide sulfurique et à l'oxyde de cérium III*
(réaction de Sonnenschein) (102).

La réaction authentique de Sonnenschein se fait ainsi : dissoudre l'alcaloïde dans 2 ou 3 gouttes d'acide sulfurique pur, ajouter une parcelle minuscule d'oxyde de cérium ; la coloration bleue apparaît immédiatement et passe lentement au rouge cerise.

Au lieu d'opérer comme précédemment, G. Guérin recommande de se servir du réactif suivant : délayer 0 g. 10 d'oxyde céroso-cérique dans 1 cm³ d'eau et dissoudre peu à peu dans 50 g. d'acide sulfurique pur.

Sensibilité.

Guérin (45) a pu mettre en évidence 0 mg. 01 de strychnine par cette réaction ; Colin a encore obtenu une réaction positive avec 0 mg. 001.

5° *Réaction à l'acide sulfurique et au vanadate d'ammonium.*

Deux formules de réactif ont été préconisées pour l'application de cette réaction :

celle de Mandelin (77) : vanadate d'ammonium, 1 g. ;
acide sulfurique pur, 100 g.

celle de Kundrat (62 bis) : vanadate d'ammonium, 0g.50 ;
acide sulfurique pur, 100 g.

Le mode opératoire est le même que celui indiqué pour les réactifs précédents. On obtient aussi une coloration bleue, le passage au violet et au rouge est plus lent et après disparition de la réaction proprement dite, la teinte rouge peut être reproduite par addition d'eau. Dragendorff fait remarquer que l'on peut avec avantage, remplacer l'acide sulfurique pur par l'acide bihydraté dans les formules précédentes.

Avantages.

Cette technique permet d'effectuer un dosage, comme nous le verrons plus loin. Les acides tartrique, citrique et leurs sels, les sulfocyanates, ne nuisent pas à la netteté de la réaction. Kohn Abrest la préfère aux réactions déjà citées.

Sensibilité.

0 mg. 01 d'après G. Guérin (45)

0 mg. 001 d'après Colin (14) et W. Koll (60).

6° Réaction au carbonate de manganèse (45).

Le résidu alcaloïdique est dissous dans 2 ou 3 gouttes d'acide sulfurique, on ajoute 2 ou 3 mg. de carbonate de manganèse, on agite avec une baguette de verre effilée.

La série de teintes obtenues et la sensibilité, sont les mêmes que pour les réactions précédentes (0 mg. 01).

7° Réaction à l'acétate d'uranium (1 bis).

Principe. — La solution sulfurique de strychnine n'est pas modifiée par addition d'une faible quantité d'oxyde d'uranium Uo^3 ou de l'acétate de cet oxyde même à chaud, mais si l'on soumet l'ensemble à une vive insolation, il se produit une coloration violette intense passant au rouge cerise.

Technique. — Les auteurs recommandent d'opérer comme suit en toxicologie : sur le résidu de l'évaporation d'une partie du chloroforme, on ajoute une goutte d'acétate d'uranium

à 1 p. 100, on évapore, on recouvre de 2 ou 3 gouttes d'acide sulfurique et expose au soleil. Cette réaction permet de déceler 0 mg. 01 d'alcaloïde. Elle est caractéristique, aucun des alcaloïdes que l'on rencontre en toxicologie ne la donne.

Réaction à l'acide iodique (100).

Principe. — L'acide iodique donne avec la strychnine une coloration rosée.

Plusieurs modes opératoires ont été proposés :

1^{re} technique. — Une goutte de la solution d'acide iodique et une goutte de la solution de strychnine sont évaporées au bain-marie à la température de 45-50°. Il se produit des anneaux de couleur-rosée et, par addition d'une goutte d'eau, la masse se dissout sans changement de coloration.

Par addition de carbonate acide de sodium, la couleur rose passe au jaune paille pour revenir à la teinte primitive lorsqu'on se place en milieu acide.

2^e technique. — Sur le résidu contenant la strychnine, on ajoute une goutte d'acide sulfurique et une goutte de solution d'acide iodique.

3^e technique. — On prépare un réactif de la façon suivante : prendre une partie d'une solution saturée d'acide iodique dans l'acide sulfurique pur et six parties d'acide sulfurique.

Une goutte de ce réactif déposée sur un résidu contenant de la strychnine produit une teinte jaune, passant au rouge brique et devenant jaune paille par addition de carbonate acide de sodium.

Ces différents procédés permettent de caractériser 0 mg. 01 de strychnine; les iodates peuvent être utilisés à la place de l'acide iodique.

9^o Réaction à l'acide sulfurique et au perhydrol (96 bis)

Une solution de perhydrol dans de l'acide sulfurique concentré donne une coloration rouge pourpre stable avec la strychnine.

B. Réactions colorées de la tétrahydrostrychnine et de la strychnidine

En milieu acide, la strychnine est réduite à l'état de strychnidine et de tétrahydrostrychnine par l'hydrogène naissant. Ces corps donnent des produits colorés en présence de certains oxydants, comme l'ont fait remarquer Tafel et Denigès.

1^o Réaction de Tafel (108).

0 g. 10 de sulfate de strychnine sont dissous dans 10 cm³ d'eau, à 1 cm³ de cette solution on ajoute 2 cm³ d'eau, 4 gouttes d'acide chlorhydrique officinal et de la poudre de zinc en excès. On chauffe pour parfaire la réaction et on filtre. Le filtrat est additionné d'une goutte de la solution officinale de chlorure de fer III, il se développe une belle coloration rouge safranée qui ne disparaît pas en chauffant.

En employant le mode opératoire décrit, la réaction n'est pas très sensible puisqu'il faut 4 mg. de sulfate de strychnine d'après Lenz (68 bis), pour obtenir une coloration.

2^o Première réaction de Malaquin (75).

A la séance de la société de pharmacie de Paris du 1^{er} décembre 1909, Malaquin fit connaître une nouvelle réaction de la strychnine. Il recommandait d'opérer sur des solutions étendues, de titre égal à 1 p. 1000 au plus.

Voici le mode opératoire conseillé :

« Introduire dans un tube à essais :

Solution contenant un sel de strychnine, 1 cm³;

Acide chlorhydrique chimiquement pur, 1 cm³;

Zinc pur (décapé à l'acide nitrique et lavé à l'eau distillée), 1 g.

Laisser réagir à froid pendant 2 à 4 minutes, porter rapidement à l'ébullition et refroidir sous l'eau. D'autre part, dans le fond d'un tube à essais bien sec, on dépose à l'aide d'une pipette, 2 cm³ d'acide sulfurique pur et concentré. On verse

alors sur cet acide la liqueur précédente décantée, avec précaution, de façon à ne pas mélanger les liquides.

Si la solution à examiner contient de la strychnine, il se forme au niveau de la ligne de séparation des deux liquides un anneau rose visible sur fond blanc ou sur verre dépoli, en regardant par transparence. Cet anneau apparaît soit immédiatement, soit au bout de quelques minutes et va en s'épaississant avec le temps, jusqu'à occuper tout le volume du liquide. On porte alors à l'ébullition pendant quelques secondes.

Pour opérer plus rapidement et obtenir une réaction immédiate, il suffit d'agiter le tube avec précaution pour effectuer le mélange. La teinte rose envahit alors le liquide et augmente d'intensité pendant quelques instants. On chauffe ensuite comme il est dit ci-dessus ».

L'auteur a montré que la picrotoxine, la cicutine, l'ésérine, la vératrine, la morphine, l'atropine, la cocaïne, la brucine, la pilocarpine, la quinine, l'aconitine, la spartéine, ne donnent pas cette réaction.

La teinte rose se conserve indéfiniment; elle disparaît par addition d'un excès d'ammoniaque, de sulfite acide de sodium ou de sulfocyanate de potassium.

3^o Réaction de Denigès (22).

Denigès a repris l'étude de cette réaction et il a montré que, si on emploie du zinc pur, décapé par l'acide nitrique, mais parfaitement lavé, de façon à enlever toute trace de produits nitreux, on n'obtient pas de coloration rose. Dans la technique de Malaquin, la coloration est due à ce que le zinc a encore conservé adhérentes des traces d'acide nitrique.

Aussi a-t-il conseillé le mode opératoire suivant, réussissant à coup sûr : « Introduire dans un tube à essais : 4 cm³ de solution de strychnine salifiée (ou encore 4 cm³ d'eau et une toute petite prise : 5 à 10 mg. de strychnine ou d'un de ses sels à l'état solide quand on veut en faire l'identification); ajouter 4 cm³ d'acide chlorhydrique pur ($D = 1,18$) et 2 à 3 g. de zinc

amalgamé ou de zinc pur granulé. Porter à l'ébullition, abandonner le mélange à lui-même pendant trois à quatre minutes; au bout de ce temps, décanner et faire refroidir.

A 2 cm³ de ce liquide versés dans un tube à essais, on ajoute une goutte de solution de nitrite de sodium à 1 p. 1000 et on agite; il se développe aussitôt une teinte rouge présentant lorsqu'elle est suffisamment intense, deux bandes d'absorption dans la région vert bleu du spectre. On obtient encore une teinte appréciable avec 3 ou 4 millièmes de mg. de strychnine par cm³ de la prise d'essai.

Dans un second tube, on met 1 cm³ d'acide sulfurique pur, 1 goutte de solution au millième de nitrate de sodium et on verse avec précaution 1 cm³ de liquide hydrostrychnique. En agitant, il se développe une coloration rouge présentant les mêmes caractères spectroscopiques que la précédente, mais avec une nuance plus rosée, parce qu'elle n'est pas accompagnée d'une trace de nitrosamine jaune, comme dans le cas de l'acide nitreux. La sensibilité est ici un peu moindre, sa limite est d'environ 5 millièmes de mg. par cm³.

Enfin, le reste du liquide provenant de la solution de strychnine soumise à l'action du zinc et de ClH est additionné d'une ou deux gouttes d'eau bromée saturée à froid. On agite: il se développe bientôt une superbe coloration rouge pourpre qui peut devenir d'une extrême intensité lorsque la strychnine mise en œuvre atteint 1 cg. par cm³.

La limite de perception de cette dernière réaction qui se traduit alors par une teinte rose faible, est à peu près de 0 mg. 005 par cm³. A cette dilution et même à partir de 0 mg. 020, il est bon de n'ajouter à l'essai qu'une goutte d'eau bromée saturée, diluée au quart ou au cinquième avant son emploi et de porter jusqu'à l'ébullition. A cette coloration pourpre, que donne le brome, correspond un spectre d'absorption caractérisé par la présence d'une large bande dans le jaune, aussitôt après le rouge ».

4^o *Seconde réaction de Malaquin.*

En 1927, Malaquin a indiqué un nouveau mode opératoire qui se rapproche de celui de Denigès.

A 4 cm³ d'une solution de strychnine on ajoute 2 cm³ d'acide chlorhydrique et 2 grammes de zinc pur en lames ou en grenailles. On laisse l'hydrogénation s'effectuer pendant 5 à 6 minutes. Le liquide est décanté et filtré, on l'additionne d'une goutte de solution aqueuse d'acide nitrique au cinquantième. Le liquide hydrogéné est versé avec précaution au-dessus d'un égal volume d'acide sulfurique pur dans un tube à essai. Il se produit un anneau rose qui gagne la masse par agitation.

A notre avis, cette technique ne vaut pas celle de Denigès.

ESSAIS PERSONNELS

Nous avons effectué quelques essais en nous servant des plus importantes parmi les réactions que nous venons de citer.

A) Réactions obtenues en faisant agir l'acide sulfurique concentré et un oxydant

1° Réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium.

Nous avons vérifié la sensibilité indiquée par les différents auteurs : nous avons employé une solution de sulfate de strychnine correspondant à une solution de strychnine base à 1 p. 1000; on la diluait à 1 p. 100 avec de l'eau distillée. 0 cm³ 1 de cette dernière solution, équivalant à 0 mg. 001 de strychnine, était évaporé au bain-marie sur un verre de montre. En répétant de nombreuses fois l'expérience, nous avons vu que les différentes techniques proposées pour cette réaction permettent de mettre en évidence 0 mg. 001 de strychnine, mais, d'une façon générale, l'intensité de la réaction est maximale lorsqu'on emploie les réactifs de Fluckiger et de Denigès. La formule de Fluckiger est préférable, elle contient moins d'acide sulfurique et provoque moins facilement le brunissement des résidus lorsqu'ils ne sont pas totalement privés de matières organiques. Il convient de promener à la surface du résidu l'extrémité effilée d'un agitateur trempée dans le réactif; il est parfois nécessaire de répéter plusieurs fois cette addition, afin d'obtenir l'intensité maximale lorsque le résidu renferme plusieurs millièmes de milligramme de strychnine.

Strychnine et brucine. — Lorsqu'on se trouve en présence d'un mélange de strychnine et de brucine à parties égales, il se produit une coloration rouge due à ce dernier alcaloïde

les stries violettes sont cependant perceptibles et peuvent devenir très nettes lorsqu'on se sert du réactif de Fluckiger, comme nous venons de l'indiquer.

Technique de Horsley. — Cette technique paraissant intéressante, nous avons songé à l'utiliser mais nous nous sommes aperçu qu'elle est dénuée de toute sensibilité. En effet :

1° La solution saturée de chromate de potassium ne précipite pas une solution de strychnine à 1 p. 1000 : 1 cm³ de la solution de sulfate de strychnine correspondant à une teneur en cet alcaloïde de 1 p. 1000, ne précipite pas, même au bout de 2 jours, par addition de 1 cm³ de la solution saturée de chromate de potassium.

2° 1 cm³ de la même solution de sulfate de strychnine ne donne pas non plus de précipité lorsqu'on lui ajoute un cristal de chromate de potassium de manière à saturer la solution, sans produire de dilution.

3° Toutefois, la solution de sulfate de strychnine à 1 p. 100 donne un précipité abondant, lorsqu'on répète avec elle les deux expériences précédentes.

Outre son manque de sensibilité, cette technique ne présente pas tous les avantages qu'on en attendait : une solution de sulfate de quinine à 1 p. 100 précipite également quand on l'additionne de la solution saturée de chromate de potassium.

2° Réaction à l'acide sulfurique et au permanganate de potassium

L'emploi du réactif de Wenzell est encore à conseiller ici de préférence à la technique utilisée par Crolas dans l'affaire du Pont-de-Beauvoisin, l'excès de permanganate nuisant dans ce cas à la stabilité de la réaction.

Nous avons évaporé des volumes déterminés de solution de strychnine dans des verres de montre, en concentrant le résidu sur une faible surface. Après refroidissement, nous avons ajouté une gouttelette de réactif de Wenzell dans chaque verre de montre.

Les résultats obtenus se résument comme suit :

Volumes évaporés en cm ³	Strychnine contenue en milligrammes	Réaction
1	0,010	+
0,8	0,008	+
0,7	0,007	+
0,6	0,006	+
0,4	0,004	+
0,3	0,003	+
0,2	0,002	+
0,1	0,001	+

Avec 0 mg. 0009, la réaction fut encore positive et négative avec 0 mg. 0008 et au-dessous. Il est à remarquer que la réaction n'est pas instantanée, 2 à 3 minutes sont parfois nécessaires pour l'apparition de la coloration.

3° Réaction à l'acide sulfurique et à l'oxyde de cérium III.

La technique authentique de Sonnenschein et le réactif de Guérin nous ont donné de bons résultats :

Strychnine en milligrammes	Réaction de Sonnenschein	Avec le réactif de Guérin
0,003	+	+
0,002	+	+
0,001	+	+

La coloration bleue est fugace, la teinte rouge a duré un quart d'heure avec 0 mg. 001.

4° Réaction à l'acide sulfurique et au vanadate d'ammonium.

La sensibilité des réactifs de Kundrat et de Mandelin, est égale à celle des réactifs précédents. D'autre part avec 0 mg. 01 de strychnine et 0 cm³ 5 de réactif de Kundrat, la coloration rouge est très nette lorsqu'on ajoute 2 cm³ d'eau distillée après développement de la série de teintes énumérées plus haut.

5° Réaction à l'acide iodique

Lorsqu'on opère suivant la première technique, la coloration pourpre est le plus souvent limitée à la périphérie du résidu de la goutte de solution de strychnine. En ajoutant une goutte d'eau après la réaction, la teinte rose communiquée au liquide a été faible; même avec 0 mg. 05 de strychnine. Elle a disparu en 20 minutes.

Le second mode opératoire nous a donné de bons résultats, mais il est moins sensible que le troisième qui nous a permis de caractériser 0 mg 01 de strychnine.

B) Réactions colorées de la tétrahydrostrychnine et de la strychnidine

1° Réaction de Tafel

On ne peut songer à utiliser en toxicologie, la technique de cet auteur; elle est peu sensible comme nous l'avons vu précédemment; en opérant l'hydrogénation comme dans la technique de Denigès, et en employant la solution officinale de chlorure de fer III diluée à 1 p. 100 comme oxydant, on obtient une réaction positive avec 0 mg. 006 par cm³ de la prise d'essai.

2° Réactions de Denigès

Nous avons étudié les réactions dans lesquelles on se sert de l'eau bromée et du nitrite de sodium. Comme il ressort des travaux de Denigès, la dernière de ces réactions est la plus sensible. L'emploi de l'autre technique, où l'on se sert de l'acide sulfurique, a l'inconvénient de provoquer le brunissement des résidus incomplètement privés de matières organiques.

Nous avons employé pour l'hydrogénation, tantôt le zinc amalgamé, tantôt le zinc pur Poulenc en aiguilles. Nous avons reconnu que la sensibilité de la réaction est la même dans les deux cas et nous avons généralisé l'emploi du zinc pur en aiguilles.

Comme il s'agit d'utiliser cette réaction en toxicologie nous avons réduit le volume des prises d'essais indiquées par l'auteur pour donner à la recherche le maximum de sensibilité : nous avons également abaissé le titre de la solution de nitrite de sodium à 1 pour 10.000.

Introduire dans un tube à essai de 5 à 6 millimètres de diamètre 0 cm³ 25 de solution de strychnine et 0 cm³ 25 d'acide chlorhydrique pur de densité 1,18; ajouter 0 g. 50 de zinc pur en aiguilles, porter à l'ébullition et abandonner 3 à 4 minutes à l'hydrogénation; refroidir sous l'eau et décantier dans un tube identique au précédent. La coloration rose se produit par addition d'une goutte de solution à 1 pour 10.000 de nitrite de sodium; une telle solution ne se conserve pas longtemps; aussi il vaut mieux préparer une liqueur à 1 p. 100 que l'on dilue au centième au moment de l'emploi.

Dans nos expériences, la solution mère de strychnine qui nous a servi à préparer des solutions plus diluées contenait 1 gr. 2814 de sulfate de strychnine par litre, correspondant à 1 p. 100 de strychnine base.

Nos résultats se résument comme suit :

Tableau n° 1

Strychnine en milligrammes	Réaction
0,00006	—
0,00012	—
0,00018	—
0,00025	—
0,00031	—
0,00037	—
0,00043	—
0,0005	+
0,00056	+
0,00062	+

On a donc pu caractériser 0 mg. 0005 de strychnine par cette réaction.

Durée de la coloration obtenue. — La stabilité de la teinte rose dépend de la teneur en alcaloïde. Elle a duré 48 heures à l'obscurité dans les trois tubes du tableau ci-dessus où la réaction fut positive. En lumière vive, l'existence de la coloration est de beaucoup abrégée.

Lorsqu'on opère sur des quantités plus grandes de strychnine (quelques centièmes de milligramme), après disparition de la teinte rose on peut encore la reproduire en ajoutant une goutte de la solution à 1 p. 10.000 de nitrite de sodium. Si, dans un tube où l'on a effectué la réaction depuis plusieurs jours et où la coloration rose a fait place à une teinte jaune, on ajoute quelques aiguilles de zinc pur, et qu'on porte à l'ébullition, le liquide décanté présente après refroidissement la réaction hydrostrychnique par addition d'une goutte de la solution de nitrite de sodium.

Par exemple : on a effectué la réaction précédente avec 0cm³5 d'acide chlorhydrique au demi, contenant 0 mg. 02 de strychnine. La coloration rose avait fait place à une teinte jaune au bout de 48 heures; une goutte de la solution de nitrite de sodium a produit alors une teinte rose plus faible que la coloration initiale; elle a disparu au bout de quelques heures. A ce moment, on ne pouvait plus reproduire la couleur rose par addition de nitrite de sodium, mais en ajoutant 0 g. 50 de zinc en aiguilles environ et en portant à l'ébullition, le liquide présentait de nouveau la réaction hydrostrychnique, après refroidissement, avec une intensité de beaucoup inférieure à celle de la teinte initiale.

Emploi de l'eau bromée.

Dans une seconde catégorie d'essais, nous avons recherché la sensibilité de la réaction hydrostrychnique, en employant l'eau bromée comme oxydant.

Comme tout excès de brome nuit à la sensibilité de la réaction, nous avons employé l'eau bromée saturée diluée à 1 p. 30 avec de l'eau distillée.

Nous ajoutons dans chacun des tubes le réactif goutte

à goutte avec une pipette effilée, en ayant soin d'agiter et de laisser un intervalle de une à deux minutes entre l'addition de chaque goutte.

Nous avons effectué comparativement la réaction selon la première technique.

La réaction à l'eau bromée, nous a permis de mettre en évidence 0 mg. 0021 de strychnine.

Tableau n° 2

Strychnine en milligrammes	Réaction avec l'eau bromée	Réaction avec le nitrite de sodium
0,0003	—	—
0,0005	—	+
0,0006	—	+
0,0009	—	+
0,0012	—	+
0,0015	—	+
0,0018	—	+
0,0021	+	+
0,0025	+	+
0,0028	+	+
0,0031	+	+

Nous avons pratiqué d'autres expériences en réduisant le volume des gouttes d'eau bromée, nous nous servions pour cela d'un tube très effilé. Les résultats ont été meilleurs puisque nous avons pu caractériser ainsi 0 mg. 0012 de strychnine, mais il ressort du tableau suivant comme du précédent que la réaction effectuée selon la première technique, en employant la solution de nitrite de sodium, est plus sensible; *aussi nous l'avons uniquement employée et lorsque nous parlerons par la suite de la réaction hydrostrychnique, ce sera d'elle qu'il s'agira.*

Tableau n° 3

Strychnine en milligrammes	Réaction avec l'eau bromée	Réaction avec le nitrite de sodium
0,0003	—	—
0,0005	—	+
0,0006	—	+
0,0009	—	+
0,0012	+	+
0,0015	+	+
0,0018	+	+
0,0021	+	+
0,0025	+	+
0,0028	+	+
0,0031	+	+

Durée de la coloration. — La teinte obtenue en employant l'eau bromée comme oxydant est moins stable que celle produite par le nitrite de sodium. Elle avait disparu au bout de 24 heures dans tous les tubes des tableaux 2 et 3 où l'on avait ajouté cet oxydant. Elle a persisté 48 heures dans les tubes qui avaient reçu du nitrite de sodium.

Modifications de la réaction hydrostrychnique par quelques médicaments.

Nous avons étudié l'action de quelques médicaments d'un usage courant sur la réaction hydrostrychnique.

Caféine. — La caféine donne une teinte rouge lorsqu'on la soumet à l'hydrogénation, le produit obtenu étant oxydé par le nitrite de sodium après refroidissement. Ce n'est pas là un obstacle à l'utilisation de la réaction hydrostrychnique en toxicologie : la caféine ne précipite pas par le réactif de Mayer saturé d'iodure de mercure II. Elle ne se trouvera donc pas dans le résidu final, lorsqu'on emploiera la technique de purification que nous décrivons plus loin.

Pyramidon. — Le pyramidon ne présente pas la réaction de Denigès, nous avons étudié la manière dont se comporte un mélange de strychnine et de pyramidon.

1° Dans un tube à essai, on place 2 cm³ de la solution de strychnine à 1 p. 1000 et 2 cm³ de la solution à 1 p. 100 de pyramidon. On a effectué la réaction de Denigès sur 0 cm³ 25 de ce mélange; elle a été positive.

2° Nous avons recommencé l'expérience en prenant 0 cm³ 25 de mélange obtenu en partant de 2 cm³ de solution de strychnine, dont 1 cm³ équivalait à 0 mg. 02 d'alcaloïde et de 2 cm³ de solution à 1 p. 100 de pyramidon.

Il s'est d'abord développé une teinte violette fugace qui a fait place à une coloration rose.

3° Nous avons réalisé la même opération en nous servant de 2 cm³ de solution de strychnine à 0 mg. 004 de strychnine par cm³ et de 2 cm³ de la solution à 1 p. 100 de pyramidon. Il s'est produit une coloration violette qui a fait place à un liquide incolore ne devennant pas rose par de nouvelles additions de nitrite de sodium.

En présence de pyramidon, la sensibilité de la réaction hydrostrychnique est donc diminuée.

Antipyrine. — Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau qui suit :

Tableau n° 4.

Strychnine en milligrammes	Antipyrine ajoutée en milligrammes	Réaction obtenue
0,125	1,25	rouge
0,0012	1,25	rose saumon
0,0006	1,25	rose saumon
0,0005	1,25	rose saumon

De grandes quantités d'antipyrine, en présence de doses même faibles de strychnine, ne diminuent en rien la sensibilité de la réaction hydrostrychnique.

Quinine. — Les résultats obtenus sont les suivants :

Tableau n° 5.

Nos des Tubes	Strychnine en milligrammes	Sulfate de quinine ajouté en milligrammes	Réaction
1	0,125	1,25	+
2	0,0012	1,25	—

Le liquide hydrogéné présente une fluorescence verte intense. Il s'est développé un anneau rouge dans le tube n° 1 par addition d'une goutte de la solution de nitrite de sodium. Il a disparu par agitation. En continuant à ajouter du nitrite de sodium, goutte à goutte, il arrive un moment où la coloration rose cesse de disparaître et la réaction de Denigès est positive.

Cette teinte s'efface pour faire place à une coloration brune et non jaune pâle, comme dans le cas d'une solution pure de strychnine. La présence de quinine diminue la sensibilité de la réaction.

Morphine. — La morphine a été administrée dans certains cas de strychnisme pour calmer l'intensité des convulsions. Cet alcaloïde ne fournit pas la réaction de Denigès, nous avons vu qu'il diminue la sensibilité de la réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium; il est important de vérifier s'il atténue le degré de précision de la technique de Denigès.

Nous avons résumé quelques résultats dans le tableau ci-après; les chiffres montrent que, bien que diminuée, la sensibilité de la réaction est très grande, les quantités de morphine mises en présence étaient pourtant considérables comparées aux doses de strychnine.

Tableau n° 6

Strychnine en milligrammes	Chlorhydrate de mor- phine en milligrammes	Réaction
0,125	1,25	+
0,0012	1,25	+
0,0024	1,25	—
0,0018	1,25	—
0,0012	1,25	—

Conclusions. — De tout ce qui précède, il résulte que la réaction de Denigès est la plus sensible parmi celles que nous venons d'étudier.

Elle nous a permis de caractériser 0 mg. 0005 de strychnine; elle présente aussi l'avantage de fournir une coloration stable. C'est elle qu'on devra chercher à obtenir d'abord et on la confirmera par la réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium.

II. LES REACTIONS MICROCHIMIQUES DE LA STRYCHNINE

Depuis très longtemps, on a eu recours à la microchimie pour caractériser de très petites quantités d'alcaloïdes. La Société de pharmacie de Paris avait mis au concours en 1830, la question suivante : « Déterminer une série de caractères propres à faire distinguer les alcalis végétaux soit entre eux, soit d'autres substances organiques et assez exacts pour être appliqués dans les cas de médecine légale.

Donné (65) avait utilisé le microscope pour distinguer les alcaloïdes et il adressa un mémoire sur ce sujet, à la Société de pharmacie. Mais la technique qu'il préconisait n'était pas parfaitement mise au point et le rapporteur du concours fit remarquer qu'elle comportait de nombreuses causes d'erreurs et ne méritait pas une entière confiance.

En 1864 et en 1865, A. Helwig (50) reprit la question : il préparait des sublimés d'alcaloïdes qu'il traitait par certains réactifs tels que l'acide chlorhydrique, l'acide chromique et il examinait au microscope les formes cristallines obtenues. A. Guy (46), professeur au King's college, contrôla les expériences de A. Helwig et les continua. Citons notamment l'acide picrique parmi les réactifs dont il se servit, Popoff (90) employa également l'acide picrique et il montra qu'avec la strychnine cet acide fournit des cristaux caractéristiques disposés en dents de scie.

En 1891, Laval (65) fit une étude méticuleuse de la recherche microchimique de la strychnine. Il s'agit d'un travail patient, dans lequel le nombre des réactifs essayés est de 47.

Ceux qui ont fourni les meilleurs résultats sont dans l'ordre de leur valeur :

L'acide nitrique dilué au cinquième;

L'acide oxalique;

L'acide phosphorique dilué au dixième.

Technique. — L'auteur prépare des solutions de strychnine diluées dans le chloroforme. Il en dépose une gouttelette sur une lame, le chloroforme s'évapore et sur le résidu, il dépose une gouttelette de réactif; il recouvre d'une lamelle et examine au microscope.

L'acide nitrique dilué au cinquième donne facilement des cristaux rayonnant autour d'un centre, volumineux et obscur là où la strychnine est abondante et se réduisant à un point là où il y a peu d'alcaloïde. A un fort grossissement, on s'aperçoit que les cristaux sont des prismes rectangulaires allongés.

L'acide oxalique fournit des amas aiguillés disposés en fines houppes. Quelques-unes de ces houppes semblent rayonner autour d'un point et rappellent la forme d'un oursin.

L'acide oxalique cristallise en prismes incolores appartenant au système clinorhombique et que l'on peut rencontrer sur le bord de la préparation.

L'acide phosphorique dilué au dixième produit :

1^o De grands prismes rectangulaires droits;

2^o Des cristaux longs et aiguillés.

Cette réaction est très sensible et demande à ne pas être exposée à la chaleur.

Application. — Afin de voir si l'on pouvait utiliser les réactions précédentes en toxicologie, Laval administra 0 g.200 de sulfate de strychnine à un chien de taille moyenne. L'extraction de l'alcaloïde fut faite sur le tube digestif et le foie par la méthode de Stas, à quelques détails près. On put pratiquer les trois réactions précédentes sur le résidu, d'une façon absolument nette.

L'auteur a insisté sur la nécessité de n'opérer la caractérisation microchimique que sur des résidus purs, débarrassés des matières grasses et colorantes.

Vadam (113) en 1896 et en 1897 étudia les formes de cristallisation que donnent les réactifs généraux des alcaloïdes avec la strychnine. Les résultats qu'il obtint sont résumés ci-dessous :

L'acide picrique lui donna les cristaux décrits par Popoff (90), en se servant d'une solution à 1 p. 100 de strychnine.

Chlorure d'or. — Cristaux jaunes réunis en croix dans les solutions à 1 p. 500.

Chlorure de platine. — Cristaux jaunes abondants assemblés deux par deux par leur sommet ; ils prennent rapidement naissance dans une solution à 1 p. 500 de strychnine.

Nitroprussiate de potassium. — Aiguilles brunes groupées autour d'un point, se formant rapidement dans des solutions à 2 p. 100 de strychnine.

Les réactifs de Schultze, Scheibler, Mayer, donnent naissance à des aiguilles très longues pour les premiers réactifs, de dimension plus restreinte pour le troisième.

Pozzi-Escot (91) a critiqué fortement la valeur de la microchimie pour caractériser les alcaloïdes. Il a essayé de déterminer un réactif général permettant de les distinguer entre eux : le chlorure d'or, de platine, le chlorure mercurique, l'acide picrique, l'acide silicotungstique, les réactifs de Scheibler, Sonnenschein, Bouchardat, n'ont pas permis cette différenciation.

Surre (107) s'est servi du réactif de Mayer pour caractériser la strychnine :

Au centre d'un verre de montre, on dépose une goutte de solution alcaloïdique, une goutte de réactif de Mayer et quelques gouttes d'alcool pour dissoudre le précipité d'abord formé. On examine au microscope polarisant, on obtient de fines aiguilles isolées ou disposées en X et en Y. En lumière polarisée et à l'extinction, on observe une teinte bleutée. D'après Surre, il est parfois difficile d'obtenir cette réaction avec les résidus impurs que l'on a souvent en toxicologie.

En 1903, Denigès (21) a décrit une technique permettant de caractériser de minimes quantités de strychnine.

« On prend une solution de strychnine à 0,1 p. 100, une gouttelette de ce réactif (représentant 0 mg. 005) prélevée avec l'extrémité d'une baguette de verre est portée sur une lame, le diamètre de la goutte n'excédant pas 2 millimètres. En évitant que la goutte s'étale, on évapore à une très douce chaleur, dans l'air chaud d'une petite flamme, sans excéder 40 à 50°. On laisse refroidir complètement, puis avec l'extrémité de la baguette de verre, on prélève une goutte d'hydroxyde de sodium normal et on la dépose sur le résidu, en débordant très légèrement ce dernier et le divisant dans le liquide avec la pointe très effilée d'un agitateur. Sans recouvrir d'une lamelle, on examine au microscope et on ne tarde pas à voir cristaux des prismatiques. »

Cette réaction a permis à son auteur de caractériser 0 mg. 0001 de strychnine, les ptomaines ne donnent pas cette réaction.

Il arrive que lorsque la préparation se dessèche spontanément, les cristaux de strychnine sont voilés par de gros cristaux de carbonate de sodium. Dans ce cas, on ajoute une goutte d'eau qui dissout le carbonate de sodium.

On peut remplacer l'hydroxyde de sodium par une solution de borate de sodium.

En 1917, Denigès (24) a indiqué un procédé de caractérisation de la strychnine basé sur l'emploi de la solution à 5 p. 100 de perchlorate de sodium. Les cristaux qui prennent naissance sont constitués par de longues aiguilles, souvent groupées autour d'un point. Ils se forment directement à partir d'une concentration en strychnine de 0,5 p. 100 et, après friction, jusqu'à 1 g. par litre.

Les iodurés doubles de mercure et de baryum, de mercure et de calcium, de mercure et de lithium, plus sensibles que le réactif de Mayer, sont employés en histologie végétale pour la recherche de la strychnine.

Essais personnels.

Nous avons recherché la sensibilité des réactions indiquées par Laval.

Emploi de l'acide nitrique dilué au cinquième.

Cette réaction est facile à réussir, mais il est important de ne pas utiliser un excès d'acide nitrique au cinquième. Nous avons d'abord opéré comme l'indique l'auteur; dans ces conditions, les cristaux prennent naissance surtout à la périphérie de la préparation et ils ont tendance à disparaître dans l'excès de réactif.

Au contraire en recouvrant le résidu d'une lamelle et en déposant une gouttelette de réactif à l'un des bords de la lamelle, on n'emploie pas un excès de liquide et les cristaux sont beaucoup plus nombreux.

Sensibilité. — Nous avons traité 2 cm³ de solution de sulfate de strychnine équivalant à 2 mg. de strychnine par 12 cm³ de chloroforme, en présence d'ammoniaque. La pipette dont nous nous sommes servi donnait 87 gouttes de chloroforme par cm³. Le résidu laissé par une goutte de chloroforme sur une lamelle a été suffisant pour pratiquer la réaction ci-dessus. La quantité d'alcaloïde mise en évidence dans ce cas était inférieure à 0 mg. 002, l'extraction de l'alcaloïde n'ayant pas été absolument totale.

Emploi de la solution saturée d'acide oxalique.

Dans son travail, Laval parle de l'acide oxalique sans indiquer le taux de la solution qu'il utilise; nous nous sommes servi de la solution aqueuse saturée de cet acide. Cette réaction est moins sensible que la précédente, mais elle a bien réussi avec le résidu laissé par 2 gouttes de chloroforme évaporées au même endroit sur la lame et correspondant à moins de 0 mg. 004 d'alcaloïde.

Emploi de l'acide phosphorique dilué au dixième.

Cette réaction n'a réussi qu'avec trois gouttes de la solution chloroformique de strychnine, soit moins de 0 mg. 006 de strychnine.

Première réaction de Denigès (1903).

Elle ne le cède en rien au point de vue de la sensibilité aux réactions précédentes, mais elle a l'inconvénient de ne pas donner des groupements de cristaux caractéristiques, comme celles de Laval.

Seconde réaction de Denigès (1917).

Sa sensibilité est inférieure à celles des réactions précédentes et elle est très délicate à réussir avec quelques millièmes de milligramme.

Parmi les réactions précédentes, les deux premières indiquées par Laval semblent être les plus recommandables. Il y a avantage à utiliser le chloroforme comme véhicule; dans ce cas, en effet, la gouttelette s'évapore en se rétrécissant, concentrant ainsi l'alcaloïde sur une petite surface et donnant aux différentes techniques leur maximum de sensibilité.

Mais à elle seule, la microchimie ne permet pas de déterminer un alcaloïde en médecine légale. A cause du peu d'abondance de la matière en général et de la délicatesse des micro-réactions, on ne doit pas avoir recours d'emblée à elles; mais elles seront avec avantage, le moyen de contrôle d'une réaction chimique indécise ou nette, mais unique.

D'autre part, la microphotographie de la préparation constituera une preuve durable qui pourra être jointe au dossier. Dans certains cas, l'expert pourra même joindre la préparation. C'est ce que firent A. Tardieu, P. Lorrain et Z. Roussin (110) dans l'affaire Grisard. Leur rapport était accompagné de préparations de strychnine et de chlorhydrate de strychnine.

III. DOSAGE DE LA STRYCHNINE EN TOXICOLOGIE

Dragendorff (28) dit que le dosage de la strychnine ne pourra presque jamais être fait en toxicologie, les quantités d'alcaloïde isolées étant trop faibles. Les méthodes usuelles ne pourront être employées que d'une façon tout à fait exceptionnelle¹. C'est ainsi que l'on ne pourra pas utiliser le procédé de Bertrand (29*bis*) et (10). 1 g. d'anhydride silico-tungstique correspond, en effet, à 0 g. 4967 de strychnine. Le poids de l'anhydride obtenu ne représente que deux fois le poids de strychnine à doser et comme on n'a souvent que des millièmes de milligramme de strychnine, un tel procédé de dosage est à écarter. Le rapport du poids de précipité au poids de strychnine est encore plus faible dans les techniques basées sur l'emploi du ferrocyanure de potassium (39). Les procédés acidimétriques donneront des résultats erronés, les résidus obtenus n'étant jamais constitués uniquement par l'alcaloïde.

Joanid (56) a employé la précipitation de la strychnine par l'acide silico-tungstique et il comparait le précipité obtenu à celui fourni par des solutions titrées disposées dans une série de tubes, de façon à réaliser une gamme d'étalons. Cette technique conduit à des erreurs par excès, des substances étrangères ayant échappé à la purification étant précipitées en même temps que l'alcaloïde.

1. Dans l'empoisonnement du sieur Trümpy imputé au Docteur Demme, on découvrit 0 gr. 50 de strychnine en poudre à l'entrée de l'intestin grêle et les experts n'eurent d'autre peine que de laver ce résidu, de le peser après dessiccation et d'en constater la nature, ce qui était relativement facile (110).

**Méthodes volumétriques fondées sur la précipitation
de la strychnine par l'iodure double de potassium et de mercure**

Méthode de Al. Ionesco-Matiu et H. Varcocivi (54).

L'alcaloïde est précipité par le réactif de Mayer-Valser, le précipité est recueilli par centrifugation, lavé, dissous au moyen du mélange sulfo-nitrique oxydant et l'ion mercurique est dosé par l'ion chlore, selon le procédé de Votocek et Kasparek.

Cette technique permet l'appréciation de quantité de strychnine de l'ordre du centigramme.

Méthode de L. Maricq (79).

Elle est fondée sur le même principe que la méthode de Personne pour le dosage du mercure.

Principe. — L'alcaloïde est précipité par un excès de réactif iodomercurique titré, l'excès de réactif est dosé par une solution titrée de chlorure de mercure II. Au cours de ce dosage l'anion iodomercurique se comporte comme l'anion iode seul.

Réactif. — Il est constitué par une solution d'iodure de potassium à 0,025 N saturée d'iodure de mercure II et étalonnée au moyen d'une solution 0,005 N de chlorure de mercure II.

Technique. — On ajoute un excès connu de réactif iodomercurique, à la solution alcaloïdique légèrement acide. Après agglomération du précipité, on filtre et on titre l'excès d'iodomercurate sur une partie aliquote du filtrat. On déduit ainsi la quantité de réactif ayant servi à la précipitation. On fait un essai direct avec une solution pure de strychnine pour avoir le coefficient à utiliser.

Cette technique permet de doser des quantités de strychnine comprises entre 0 g. 03 et 0 g. 005.

Elle ne trouvera donc que très rarement son emploi en toxicologie. Comme la méthode de A. Ionesco-Matiu et H. Varcocivi, elle comporte une erreur par excès, le réactif iodo-

mercurique précipitant des substances étrangères : substances colorantes et protidiques ayant échappé à la purification.

Les méthodes de dosage de la strychnine qui donnent les meilleurs résultats en toxicologie sont les méthodes colorimétriques.

Méthodes colorimétriques

Méthode de W. Koll (59).

La coloration que donne la strychnine avec le réactif de Mandelin est à la base du dosage préconisé par Koll. Scandola avait déjà proposé une technique analogue en 1910 (59).

Principe. — La strychnine est précipitée sous forme de phosphomolybdate et on effectue la réaction de Mandelin sur le précipité.

Réactifs. — 1° Réactif de Mandelin (voir page 29).

2° Réactif phosphomolybdique.

17 g. 462 d'anhydride molybdique pur desséché pendant quelques jours dans un exsiccateur et 13 g. 519 de carbonate de sodium anhydre, sont placés dans une grande fiole d'Erlenmeyer et arrosés avec 60 cm³ d'eau distillée, puis chauffés légèrement sur une petite flamme, jusqu'à ce que l'on n'entende plus le bruit produit par le dégagement du gaz carbonique (un papier de tournesol bleu humide placé au-dessus de la solution ne rougit plus). La solution s'éclaircit à ce moment; après une courte ébullition, on refroidit et on transvase dans un ballon jaugé de 150 cm³, on complète avec les eaux de lavage de l'Erlenmeyer.

3. Solution $\frac{M}{3}$ de phosphate.

1 g. 361 de phosphate monopotassique ($PO^4 H^2K$) pour analyse biologique et 4 g. 156 de phosphate disodique ($PO^4 HNa^2, 2H^2O$) pour analyse biologique sont dissous dans 100 cm³ d'eau distillée : le P^H de cette solution est voisin de 7,1.

Technique.

Préparation de l'étalon. — Mettre 1 à 3 cm³ d'une solution neutre de sel de strychnine dans un tube de centrifugeur. La prise d'essai doit contenir de 0,1 à 1 mg. de strychnine base. On complète à 3 cm³ avec de l'eau distillée, on ajoute 1 cm³ d'acide sulfurique 3,5 — 4N et 1 cm³ du réactif phosphomolybdique. Le tube est abandonné de 3/4 d'heure à 1 heure à la température du laboratoire; on agite de temps en temps pour favoriser la précipitation. Il y a formation de grumeaux qui se rassemblent au fond du tube. Il est placé dans le centrifugeur pendant 10 minutes et l'on fait tourner à 4000-5000 tours. On décante la solution jaune d'or qui surmonte le précipité bien adhérent au fond du tube.

Préparation du tube contenant la solution de strychnine à doser. — Dissoudre le résidu contenant la strychnine dans un volume convenable d'acide sulfurique 3,5 — 4N, mesurer exactement 4 cm³ de cette solution dans un tube de centrifugeur, ajouter 1 cm³ de réactif phosphomolybdique. Le liquide surnageant est décanté, après avoir observé le même temps de précipitation que pour le tube étalon.

Les deux tubes reçoivent alors 0 cm³ 5 de réactif de Mandelin; on met les précipités en suspension en se servant d'agitateurs effilés. Lorsque la réaction est complètement développée dans les deux tubes et que les précipités sont dissous, on ajoute de l'eau distillée chaude dans chaque tube et on transvase dans des éprouvettes graduées. On amène le volume total à 20 ou 25 cm³.

On compare au colorimètre les colorations rouge orangé obtenues.

L'erreur de cette méthode est de 3 p. 100 environ, elle permet de doser des quantités de strychnine à partir de 0 mg. 02.

Exemple. — L'exemple suivant a été choisi dans les expériences de W. Koll : 100 grammes de muscle de chien sont additionnés de 2 milligrammes de strychnine base sous forme de sulfate; le résidu provenant de l'extraction est dissous dans

8 cm³ d'acide sulfurique 3,5-4 N. On en prend 4 cm³ pour le dosage colorimétrique.

On prépare un tube étalon avec 0 mg. 8 de strychnine base et on l'examine sous une épaisseur de 10 millimètres au colorimètre. On réalise l'égalité d'intensité des deux plages pour une épaisseur de 9 millimètres du liquide à doser.

4 cm³ contiennent donc $\frac{0,8 \times 10}{9} = 0 \text{ mg. } 89$ de strychnine base, la quantité d'alcaloïde extraite est de 1 mg. 78 représentant 89 p. 100 de la quantité théorique. Le taux d'extraction a donc été particulièrement élevé dans cette expérience.

Travaux personnels.

Méthode de W. Koll.

Nous avons vérifié, par plusieurs essais, que la méthode préconisée par W. Koll fournit de bons résultats. Elle permet de doser des quantités de l'ordre de 0 mg. 01 de strychnine en n'amenant le volume total qu'à 2 cm³ par exemple, après développement de la réaction.

Méthode basée sur l'emploi de la réaction hydrostrychnique.

La coloration rose obtenue par hydrogénation de la strychnine et addition d'une solution étendue de nitrite de sodium est, comme l'a fait remarquer Denigès, proportionnelle à la quantité d'alcaloïde et on peut utiliser cette réaction pour un dosage. François s'en est servi pour doser la strychnine dans les préparations galéniques (37).

Nous l'avons mise à profit de deux façons :

Cas de très petites quantités de strychnine. — Dans 10 tubes à essais identiques de 8 millimètres de diamètre et de 10 cm de haut environ, nous avons ajouté des quantités connues d'eau, d'acide chlorhydrique et de strychnine. Après addition de zinc nous avons porté 3 à 4 minutes à l'ébullition, le liquide refroidi a été décanté dans des tubes à essais identiques

et chaque tube a reçu une goutte de nitrite de sodium à 1 p. 10000. Après obtention de la réaction, on décante dans des tubes identiques. Le tableau suivant donne le schéma d'une gamme allant de 1 millième de milligramme de strychnine à 10 millièmes.

Tableau n° 7.

Numéros des tubes	Cm ³ de solution à 1 /50.000 de strychnine	Cm ³ de clH pur	Cm ³ d'eau distillée	Zn pur en aiguille en gram- mes	Etalon correspondant dans 0 cm ³ 5 de prix d'essai à :
1	0,5	0,5	0	0,5	0 mg. 010 de strychnine
2	0,45	0,5	0,05	0,5	0,009
3	0,4	0,5	0,10	0,5	0,008
4	0,35	0,5	0,15	0,5	0,007
5	0,30	0,5	0,20	0,5	0,006
6	0,25	0,5	0,25	0,5	0,005
7	0,20	0,5	0,30	0,5	0,004
8	0,15	0,5	0,35	0,5	0,003
9	0,10	0,5	0,40	0,5	0,002
10	0,05	0,5	0,45	0,5	0,001

Cette gamme se conserve 48 heures à condition de ne pas l'exposer au soleil. En dissolvant le résidu contenant la strychnine à doser dans 0cm³ 5 d'acide chlorhydrique au demi on pourra apprécier 0 mg. 0005 de strychnine.

On peut aussi constituer une gamme artificielle à l'aide des solutions suivantes :

Solution A	chlorure de cobalt pur.....	10 g.
	acide sulfurique pur.....	1 cm ³
	eau distillée Q. S. p.	100 cm ³
Solution B	sulfate de cuivre pur cristallisé	1 g.
	acide sulfurique pur.....	1 cm ³
	eau distillée Q. S. p.	100 cm ³
Solution C	solution A.....	3 cm ³ 1
	solution B.....	6 cm ³ 9

Volumes de solution C en cm ³	Volumes d'eau distillée en cm ³	Etalon correspondant dans 0 cm ³ 5 de prise d'essais à :
1	0	0 mg. 010 de strychnine
0,9	0,1	0,009 —
0,8	0,2	0,008 —
0,7	0,3	0,007 —
0,6	0,4	0,006 —
0,5	0,5	0,005 —
0,4	0,6	0,004 —
0,3	0,7	0,003 —
0,2	0,8	0,002 —
0,1	0,9	0,001 —

Cas de quantités plus élevées de strychnine. — Au lieu de se servir de la gamme précédente, lorsque la quantité de strychnine à doser est assez grande, fait dont on se sera rendu compte par l'importance du précipité d'iodomercurate d'alcaloïde dans la purification de celui-ci, suivant la méthode que nous exposons plus loin, on amène la solution à un taux de dilution convenable, de 0 mg. 4 à 0 mg. 6 de strychnine p. 100 et on la compare à un étalon aussi voisin que possible. On effectue la réaction avec 4 cm³ de chacun des liquides et les teintes sont examinées au colorimètre.

Ces deux modes opératoires donnent de bons résultats, l'erreur relative ne dépasse guère 5 p. 100; afin d'éviter de multiplier les causes d'erreurs, on aura avantage à utiliser de préférence la seconde technique, toutes les fois qu'on le pourra.

IV. EXTRACTION DE LA STRYCHNINE DE SES SOLUTIONS SALINES

On obtient un résidu contenant la strychnine par une des méthodes que nous exposerons plus loin (page 114); on le dissout dans de l'eau acidulée et on agite la solution avec un solvant convenablement choisi après l'avoir rendue alcaline.

Dans ce but, on a préconisé l'éther (méthode de Stas-Otto), l'éther acétique (Allerton S. Cushmann), l'alcool amylique (Erdmann et Uslar), la benzine (Dragendorff), le chloroforme (Rodgers et Girwood, Husemann, Ipsen, Ogier, Flandin, Chandelon).

à 15° 100 g. d'alcool amylique dissolvent 0 g. 905 de strychnine

—	—	benzine	—	0 g. 607	—
--	—	d'éther	—	0 g. 08	—

La solubilité dans le chloroforme est de beaucoup supérieure, elle est de 14 p. 100 d'après Chapuis (13).

Pour alcaliniser la solution, on a employé tantôt le carbonate acide de sodium ou de potassium (méthode de Stas-Otto, technique de Janssen) tantôt l'ammoniaque (Rodgers et Girwood, Flandin, Husemann); dans certains cas on s'est servi d'un hydroxyde alcalin (Lindemann et Motten) ou alcalino-terreux (Chandelon). Il vaut mieux utiliser de préférence l'ammoniaque ou un hydroxyde alcalin, les bicarbonates donnant un dégagement de gaz carbonique à la faveur duquel la strychnine reste en solution dans l'eau.

TRAVAUX PERSONNELS

Les toxicologues modernes s'accordent pour dire que le meilleur dissolvant à employer pour l'extraction de la strychnine

nine de ses solutions est le chloroforme; la base la meilleure pour la libération, l'ammoniaque. Nous avons voulu voir le rendement d'une telle technique, en ajoutant à des volumes connus d'eau distillée, des quantités déterminées de strychnine et en dosant l'alcaloïde extrait en se servant de la réaction hydrostrychnique.

Les solutions dont le volume était de 10 cm³ dans tous les cas, ont été alcalinisées par l'ammoniaque diluée au dixième, en se servant du papier de tournesol comme indicateur externe; on les agitait violemment avec 20 cm³ de chloroforme pendant 10 minutes; au bout de ce temps, on recueillait le chloroforme et on recommençait l'épuisement avec 10 cm³ du même solvant pendant 5 minutes. Les liquides extractifs étaient réunis et évaporés au bain-marie. Le résidu était dissous dans 100 cm³ d'acide chlorhydrique au centième et on procédait au dosage en mesurant dans les tubes à essais 2 cm³ de cette solution et 2 cm³ d'une solution étalon contenant pour 100 cm³ la quantité de strychnine qui avait servi à l'expérience; ces deux tubes recevaient 2 cm³ d'acide chlorhydrique pur et quelques aiguilles de zinc pur. On continuait comme il a déjà été indiqué.

Les résultats obtenus sont résumés au tableau n° 8.

En opérant avec un volume suffisant de chloroforme, en agitant longtemps et vivement sans crainte de provoquer l'émulsion, qui se détruit rapidement dans le cas d'une solution aqueuse pure, l'extraction est presque quantitative ce qui justifie le choix actuellement presque unanime du chloroforme. Nous verrons plus loin que le chloroforme est aussi un dissolvant des sels de strychnine (sulfate, tartrate). En réalité son action dissolvante est faible, mais suffisante pour rejeter l'emploi de ce réactif en vue de la purification des solutions salines, neutres ou acides, de strychnine, comme certains l'ont proposé (60).

Chapuis (13) signale que la strychnine est soluble dans un excès d'ammoniaque, la brucine présente beaucoup plus nettement cette propriété; aussi lorsque l'on doit rechercher ces deux alcaloïdes à la fois, il est préférable de remplacer

l'ammoniaque par une solution étendue d'hydroxyde de sodium.

Tableau n° 8

<i>Strychnine en mg. dans 10 cm³ d'eau distillée</i>	<i>Strychnine extraite en mg.</i>	<i>Taux d'extraction</i>
1	0,87	87 p. 100
1	0,90	90
1	0,93	93
0,8	0 81	90
0,8	0,75	93
0,7	0,65	92
0,6	0,57	95
0,5	0,47	94
0,4	0,38	95
0,3	0,26	86
0,1	0,08	83

1. Dans ce cas, le résidu a été dissous dans 25 cm³ d'acide chlorhydrique au centième et on a choisi une solution étalon à 0 g. 4 p. 100 de strychnine.

CHAPITRE DEUXIEME

I. RÉACTIONS DE LA BRUCINE

La plupart des réactions de la brucine comprennent un premier temps dans lequel l'alcaloïde est oxydé et donne une coloration, le produit est ensuite traité par des réducteurs et on observe d'autres colorations qui confirment la première réaction.

Oxydation de la brucine par l'acide nitrique.

On peut faire agir l'acide nitrique en nature sur une solution de brucine ou sur le résidu qu'elle laisse après évaporation. Il se développe une coloration rouge brique passant bientôt au jaune.

Dragendorff (28) recommande de dissoudre le résidu dans 0 cm³ 5 d'acide sulfurique trihydraté et d'ajouter quelques gouttes d'acide nitrique : il a pu caractériser 0 mg. 01 de brucine par ce procédé. On peut aussi se servir du réactif d'Erdmann. Le corps qui se forme est la cacothéline ; si la quantité d'alcaloïde est suffisante on perçoit une odeur de pomme reinette, due à la formation d'éther méthylnitreux, il se dégage aussi du bioxyde d'azote et du gaz carbonique, des cristaux jaune orangé se déposent au fond du tube au bout de quelque temps.

Action des réducteurs sur la cacothéline.

1° La solution de chlorure d'étain II ajoutée goutte à goutte à une solution de cacothéline donne une belle coloration violette, mais il faut pour cela une certaine quantité de cacothéline, sans quoi l'addition du réducteur ne produit qu'une décoloration. Cette réaction est due à Pelletier (111).

2° Frésenius a employé le sulfure d'ammonium comme réducteur; il se produit aussi une teinte violette.

3° Cotton (15) s'est servi du sulfure acide de sodium; avec un excès de ce réactif on a une coloration verte virant au rouge par les acides.

La matière violette obtenue précédemment a été appelée améthystine par Baudrimont (6). Si on part de solutions assez concentrées de brucine, il se dépose des aiguilles violettes insolubles dans l'éther, la benzine, le chloroforme; elles sont solubles dans l'acide chlorhydrique qu'elles colorent en violet et dans les solutions d'hydroxyde de sodium qu'elles teintent en vert.

Oxydation de la brucine par les oxydants indirects.

a) par le chlore (III).

Si l'on fait passer un courant de chlore dans une solution de brucine, il se développe une coloration jaune puis rouge sang; il se forme des flocons incristallisables si on continue à faire passer le courant gazeux.

b) par le brome.

Le brome donne avec la brucine, en milieu alcoolique ou aqueux, une teinte violette.

François (36) a mis au point quelques réactions pour la brucine en employant l'eau bromée comme oxydant.

Voici comment on peut les réaliser¹ :

1° A 1 cm³ de solution de brucine, on ajoute de l'eau bromée saturée jusqu'à coloration jaune, puis 1 cm³ de soluté officinal de bisulfite de sodium. On partage en deux tubes.

a) L'un est porté au voisinage de l'ébullition et on ajoute 0 cm³1 d'ammoniaque; il se forme une belle coloration violette;

b) Dans l'autre on verse goutte à goutte de l'ammoniaque diluée au quart, on observe une teinte jaune, puis verte pas-

1. Nous avons réduit les prises d'essais indiquées par l'auteur pour permettre de mettre en évidence de petites quantités de brucine.

sant au bleu puis au violet pour se stabiliser à une teinte améthyste.

2° A 0 cm³ 5 de solution de brucine, on ajoute de l'eau de brome saturée jusqu'à coloration jaune, on décolore par une goutte de solution diluée de bisulfite de sodium. Après addition de 0 cm³ 1 d'ammoniaque, il se produit une coloration brune virant au vert et donnant une teinte feuille morte si l'on porte le tout à l'ébullition.

3° A 0 cm³ 5 de solution de brucine, on ajoute de l'eau bromée saturée jusqu'à coloration jaune, puis goutte à goutte de la solution officinale de bisulfite de sodium dilué au dixième pour détruire l'excès de brome; le tube reçoit alors 0 cm³ 5 d'acide chlorhydrique pur; on porte à l'ébullition, il apparaît une teinte rouge groseille proportionnelle à la quantité de brucine.

*Caractérisation successive de la brucine
et de la strychnine sur la même prise d'essai.*

Sauf de très rares exceptions, lorsqu'on rencontre ces deux alcaloïdes en toxicologie, on les caractérise sur la même prise d'essai, sans les séparer. Toutefois, si les quantités sont importantes, on pourra les séparer par l'un des deux procédés suivants.

1° On les transforme en oxalates que l'on traite par l'alcool à 95°, l'oxalate de brucine est insoluble dans ces conditions;

2° Les deux bases sont amenées sous forme de sulfate, on ajoute un excès d'ammoniaque : la strychnine précipite et la brucine reste en solution.

Pour mettre en évidence la brucine et la strychnine, sans les séparer, on opérera suivant la technique indiquée par Ogier et Kohn-Abrest (85).

Au résidu alcaloïdique on ajoute de l'acide sulfurique contenant un peu d'acide nitrique, la brucine donne une coloration rouge dans ces conditions. On promène une parcelle de dichromate de potassium à la surface du mélange; on voit se développer des stries violettes si la strychnine est présente.

Réactions micro-chimiques de la brucine.

Popoff (90) a décrit les cristaux de picrate de brucine et Denigès (24) ceux de perchlorate. Vadam (113) a également utilisé les réactifs déjà cités (page 49) pour différencier la strychnine de la brucine.

Recherches personnelles.

Oxydation de la brucine par l'acide nitrique.

On dissout le résidu alcaloïdique dans 0 cm³ 5 d'acide chlorhydrique à 1 p. 100 et on décante dans un tube à essais de 10 cm. de haut et de 8 mm. de diamètre; on ajoute 0 cm³ 3 d'acide nitrique. Il se développe une coloration rouge passant très vite à la teinte jaune orangé des solutions étendues de dichromate de potassium en 15 secondes environ; cette dernière teinte vire au jaune au bout de dix minutes. Cette technique nous a permis de caractériser 0 mg. 01 de brucine et de plus elle se prête à une appréciation quantitative.

Action du chlorure d'étain II sur la cacothéline.

Dans des petits tubes à essais identiques à ceux qui ont servi pour la réaction précédente, on dispose des quantités déterminées de solution de brucine dont 1 cm³ équivaut à 0 mg. 3 de brucine, de l'eau distillée pour compléter à 0 cm³ 5 et 0 cm³ 3 d'acide nitrique pur dans chaque tube. On ajoute une goutte de la solution de chlorure d'étain II¹ dans chaque tube; il se produit une coloration verte fugace qui passe au violet.

1. Préparation du chlorure d'étain II. Faire bouillir longtemps de la poudre d'étain avec de l'acide chlorhydrique concentré (l'étain étant toujours en excès) jusqu'à ce qu'il ne se dégage plus d'hydrogène. Eten- dre quatre fois le volume avec de l'eau distillée contenant un vingtième d'acide chlorhydrique, filtrer, conserver en flacon contenant un petit fragment d'étain (J.-A. Labat, *Manuel opératoire des travaux pratiques de toxicologie*, p. 30).

Tableau n° 9.

Numéros des tubes	Brucine en milli- grammes dans 0 cm ³ 5 de solution	Volume d'acide nitrique ajouté en cm ³	Réaction
1	0,15	0,3	+
2	0,12	0,3	+
3	0,09	0,3	+
4	0,06	0,3	+
5	0,03	0,3	+

Trois heures après, le liquide était incolore dans les différents tubes.

Nous avons effectué la même opération en partant d'une solution de brucine dont 1 cm³ correspondait à 0 mg.1 de brucine.

Tableau n° 10

Numéros des tubes	Brucine en milli- grammes dans 0 cm ³ 5 de solution	Volume d'acide nitrique en cm ³	Réaction
1	0,05	0,3	+
2	0,04	0,3	+
3	0,03	0,3	+
4	0,02	0,3	+
5	0,01	0,3	+

La réaction a encore été positive dans le tube n° 5 mais la coloration a été extrêmement fugace : elle a disparu immédiatement après son apparition et le liquide est resté incolore. La coloration a persisté plus d'une heure dans les quatre premiers tubes.

Réactions de François.

La première réaction a été positive avec 0 mg. 1 de brucine, par cm³ de la prise d'essai ; à cette dilution la teinte n'est plus

violette, mais jaune verdâtre. Le liquide obtenu ne se prête pas à la caractérisation successive de la brucine et de la strychnine; en ajoutant de l'acide chlorhydrique et du zinc, il se produit un précipité abondant de soufre et par addition d'une goutte de solution de nitrite de sodium, il ne se développe pas de coloration rouge.

D'ailleurs aux faibles concentrations, le terme de cette réaction de François n'est pas une teinte violette mais verte et même jaune verdâtre avec 0 mg. 1 de brucine par cm^3 de prise d'essai.

La deuxième réaction de François est moins sensible que la première, avec des quantités de brucine de 1 mg. par cm^3 de prise d'essai et au-dessous, nous n'avons pas noté de virage de la teinte brune initiale au vert. Avec 0 mg. 1 par cm^3 on n'obtient qu'une teinte jaune très légère. Le liquide ayant servi à cette réaction peut encore être utilisé à l'identification de la strychnine par la réaction hydrostrychnique.

En effectuant la troisième réaction indiquée par François, selon sa technique, nous avons trouvé qu'elle permet de déceler 0 mg. 25 de brucine par cm^3 de prise d'essai, avec 0 mg. 20 la réaction était négative. Mais en utilisant l'eau bromée saturée diluée au dixième et la solution officinale de bisulfite de sodium étendue au centième, nous avons obtenu des résultats plus satisfaisants qui sont résumés ci-dessous :

Tableau n° 11

Brucine en milligrammes dans 0 cm^3 5 de solution	Volume d'acide chlorhydrique pur, ajouté, en cm^3	Réaction
0,025	0,5	+
0,020	0,5	+
0,015	0,5	+
0,010	0,5	coloration très faible.
0,005	0,5	coloration très faible.
0,0025	0,5	—

La teinte rouge groseille obtenue est très stable et elle reste intacte même plusieurs mois, à condition de ne pas exposer les tubes à la lumière solaire vive. Dans ce cas, l'intensité décroît rapidement. *Cette dernière réaction est celle qui nous a paru la plus intéressante et ce sera d'elle qu'il s'agira dans tous les cas, lorsque nous parlerons de la réaction de François.*

Caractérisation successive de la brucine et de la strychnine sur la même prise d'essai

Technique d'Ogier et Kohn Abrest (85). — Nous avons dissous le résidu alcaloïdique dans une goutte d'acide sulfurique pur, on touchait la surface du liquide avec la pointe effilée d'un agitateur trempée dans l'acide nitrique. On observait la coloration rouge due à la brucine, on ajoutait une fine parcelle de dichromate de potassium et on notait la formation de stries violettes. Ce procédé nous a permis de caractériser ces deux alcaloïdes dans des résidus qui ne contenaient que 0 mg. 003 de chacun et qui étaient obtenus par l'évaporation de volumes déterminés de solutions titrées dans des verres de montre. Avec des doses inférieures, nous n'avons pas obtenu de résultats nets.

Technique personnelle

Obtention successive de la réaction de François et de la réaction hydrostrychnique sur la même prise d'essai.

A 0 cm³ 5 de la solution contenant les deux alcaloïdes, on ajoute de l'eau bromée saturée diluée au dixième, goutte à goutte jusqu'à coloration jaune et avec la même précaution de la dilution au centième du soluté officinal de bisulfite de sodium, jusqu'à décoloration, en évitant tout excès; après addition de 0 cm³ 5 d'acide chlorhydrique pur, on porte 2 minutes à l'ébullition. Si le liquide contient de la brucine, il se développe une coloration rouge.

On ajoute 0 g. 50 de zinc pur en aiguilles environ et on porte de nouveau à l'ébullition, la teinte rouge due à la brucine disparaît et laisse un liquide incolore. Il est décanté dans un autre tube et refroidi; en y laissant tomber une goutte de

nitrite de sodium à 1 p. 10.000, il apparaît une coloration rose si la strychnine est présente.

Si les quantités d'alcaloïdes sont assez grandes, l'addition d'eau bromée produit un précipité qui disparaît par addition du bisulfite de sodium; on remarque également à ce moment une teinte violette fugace due à la brucine.

Sensibilité de la méthode.

La sensibilité de la réaction hydrostrychnique n'est pas abaissée dans ce couplage; celle de la réaction de François reste pour ainsi dire la même également comme le montrent les chiffres suivants :

Strychnine en milligram- mes dans 0 cm ³ 5 de solution	Brucine ajoutée, en milligrammes	Volumes d'acide chlorhydrique pur en cm ³	Réaction de François
0,025	0,025	0,5	+
0,023	0,023	0,5	+
0,021	0,021	0,5	+
0,018	0,018	0,5	+
0,016	0,016	0,5	+
0,015	0,015	0,5	+
0,013	0,013	0,5	+
0,012	0,012	0,5	—
0,011	0,011	0,5	—
0,010	0,010	0,5	—

II. Dosage de la brucine

Comme il ne s'agit le plus souvent que de quantités extrêmement faibles de brucine, les méthodes colorimétriques sont celles qui donneront le meilleur résultat.

1° Nous avons cherché à utiliser dans ce but la réaction de François (36) et (37), nous avons préparé une série d'éta-
lons allant de 0 mg.025 à 0 mg.007 pour 0 cm³.25 de prise
d'essai. Nous n'insisterons pas, cette réaction n'ayant pas
donné de résultats satisfaisants pour la recherche de petites
quantités de brucine dans les organes, comme on le verra
plus loin.

2° En effectuant la réaction à l'acide nitrique comme nous

l'avons indiquée à la page 66 l'intensité de la teinte jaune orangé est proportionnelle (29 bis) à la quantité de brucine.

On peut réaliser une gamme allant de 0 mg. 1 de brucine à 0 mg. 01; on se sert d'une pipette graduée en vingtièmes de cm³ pour mesurer les volumes indiqués ci-dessous.

Tableau n° 12 bis.

Volumes de solution dont 1 cm ³ = 0 mg. 20 de brucine	Volumes d'eau distillée	Volumes d'acide nitrique de d = 1,42	Numéros des tubes	Brucine en milligrammes dans 0 cm ³ 5 de prise d'essai
0,05	0,45	0,30	1	0,01
0,10	0,40	0,30	2	0,02
0,15	0,35	0,30	3	0,03
0,20	0,30	0,30	4	0,04
0,25	0,25	0,30	5	0,05
0,30	0,20	0,30	6	0,06
0,35	0,15	0,30	7	0,07
0,40	0,10	0,30	8	0,08
0,45	0,05	0,30	9	0,09
0,50	0	0,30	10	0,10

La gamme précédente est d'une durée très limitée, aussi il est préférable de se servir de la gamme artificielle suivante.

On prépare les solutions suivantes :

Solution A.	dichromate de potassium pur ...	1 gramme
	acide sulfurique pur.....	3 cm ³ .
	eau distillée Q. S. pour	100 cm ³ .

Solution B.	chlorure de cobalt	3 grammes
	acide sulfurique pur	2 cm ³ .
	eau distillée	100 cm ³ .

Solution C.	Solution A.	10 cm ³ .
	eau distillée	40 cm ³ .

Solution D.	Solution B.	5 cm ³ .
	Solution C.	3 cm ³ .
	eau distillée	1 cm ³ .

On choisit 10 tubes à essais de 10 cm de hauteur et de 8mm. de diamètre et on y mesure les volumes suivants de liquide :

Volume de la solution D. en cm ³	Volume d'eau en distillée en cm ³	Numéros des tubes	Etalon correspon- dant pour 0 cm ³ 5 de prise d'essai à :
0,1	0,9	1	0,01 mg.
0,2	0,8	2	0,02
0,3	0,7	3	0,03
0,4	0,6	4	0,04
0,5	0,5	5	0,05
0,6	0,4	6	0,06
0,7	0,3	7	0,07
0,8	0,2	8	0,08
0,9	0,1	9	0,09
0,8	0	10	0,10

Afin de réduire le volume à 0 cm³ 8 on retire 0 cm³ 2 de liquide des 9 premiers tubes après avoir agité.

Ce mode opératoire nous a donné de bons résultats.

3° On pouvait également penser à la réaction à l'améthystine pour un dosage colorimétrique. Les résultats obtenus en opérant sur des solutions pures sont satisfaisants. Au contraire, dans le cas de brucine contenue dans des résidus d'extraction soigneusement purifiés, l'intensité de la coloration baisse immédiatement et ne donne pas le temps d'une appréciation colorimétrique.

CHAPITRE TROISIEME

EXPERIMENTATION PHYSIOLOGIQUE

L'expérimentation physiologique est un des moyens que l'on a utilisés depuis très longtemps pour découvrir le crime. C'est ainsi que Guy Simon (85) apothicaire chargé d'expertiser les substances trouvées chez Sainte-Croix (l'amant de la Brinvilliers), note dans son rapport qu'il mit un peu de la poudre déposée par le liquide dans une des fioles sur un morceau de fressure de mouton qu'il donna à un chat ; l'animal vomit pendant une demi-heure et fut trouvé mort. Il empoisonna également un pigeon, un chien, un poulet d'Inde avec le contenu des fioles et, de l'ensemble de ces expériences, il conclut qu'elles contenaient « un poison terrible, diabolique, insaisissable ».

Depuis qu'Orfila (84) a lancé la chimie toxicologique dans la voie scientifique, on s'est d'abord efforcé d'extraire le poison, de le caractériser par ses réactions chimiques, d'obtenir ensuite la confirmation par la méthode physiologique, en cherchant non pas tant à produire la mort de l'animal, qu'à observer chez lui des symptômes caractéristiques. Tardieu, fut le premier à utiliser cette expérimentation en toxicologie et c'est elle qui lui permit de mettre en évidence la digitaline dans l'affaire Lapommerais (109 *bis*). Autre part, (109), dans son étude sur l'empoisonnement, il dit à propos de la strychnine : « En effet, alors même que l'on ne parviendrait pas à isoler à l'état de pureté une quantité de strychnine suffisante pour obtenir la démonstration matérielle et positive de ses caractères propres, on aurait dans le résidu extrait du cadavre la matière d'une expérimentation qui ne pourrait manquer de porter la conviction dans tous les esprits. Nul réactif n'est plus sensible, en effet, au contact de la strychnine que

l'organisme d'un animal vivant et nous avons montré tout le parti qu'on en peut tirer ».

Tardieu fut brillamment suivi dans cette voie et en 1890, Garnier (41) après avoir mis la strychnine en évidence par ses réactions chimiques dans l'affaire Hayet, expérimenta sur la Grenouille et remit avec son rapport plusieurs myogrammes obtenus en enregistrant les contractions tétaniques du gastrocnémien.

La Grenouille n'est pas le seul réactif biologique utilisé pour la strychnine, des travaux récents ont mis en honneur les Poissons et la Souris blanche. Le tableau suivant rend compte de la sensibilité de plusieurs animaux à l'égard de cet alcaloïde injecté par la voie sous-cutanée, il est emprunté à Nothnagel et Rossbach (83); dans une colonne supplémentaire, nous avons rapporté la dose minima mortelle au kilogramme d'animal :

	Poids de l'animal en grammes	Dose minima mortelle	Dose minima mortelle rapportée au kg.
		en milligrammes	
Grenouille	25	0,05	2
Souris	25	0,05	2
Lapin	1.000	0,6	0,6
Poulet	380	0,76	2
Ablette	80	1,	12,2
Chat	2.080	1,6	0,76
Chien	3.000	2,5	0,83
Hérisson	500	1,5	3
Homme	70.000	30,	0,42
Pigeon	270	4,	14,8

L'Escargot est particulièrement résistant à la strychnine, il faut 5.990 milligrammes de strychnine par kg. pour produire la mort de *Helix pomatia*. Le tableau précédent montre que les animaux ordinairement choisis pour l'expérimentation (Grenouille, Souris) ne sont pas les plus sensibles, mais ils permettent de mettre en évidence de petites quantités de strychnine, grâce à leur faible masse.

I. LA GRENOUILLE REACTIF BIOLOGIQUE DE LA STRYCHNINE

La Grenouille est utilisée depuis très longtemps pour la recherche et même le dosage de la strychnine; c'est elle que Christison et Marshall Hall (19) employaient dans leur méthode naturelle.

Symptômes de l'intoxication strychnique.

Vulpian (116 bis) décrit de la façon suivante les symptômes présentés par la Grenouille ayant reçu une injection de strychnine, en quantité convenable : « La tête est un peu fléchie sur le cou, les paupières inférieures sont relevées; les globes oculaires enfoncés dans les orbites; les membres postérieurs sont en extension forcée, les orteils écartés les uns des autres, Quant aux membres antérieurs, ils sont étendus le long des parties latérales du corps chez la femelle, fléchis et les mains rapprochées du sternum chez le mâle. L'accès du tétanos strychnique chez les grenouilles, comme chez les mammifères offre des affaiblissements et des renforcements successifs : les renforcements se font aussi sous forme de brusques redoublements spasmodiques. Après une série plus ou moins longue de ces redoublements, qui vont d'ailleurs en s'atténuant peu à peu, l'accès cesse : la Grenouille reste immobile, dans l'extension, flasque comme si elle évitait tout mouvement qui pourrait donner lieu à une nouvelle explosion de spasmes. Les mouvements respiratoires de l'appareil hyoïdien se rétablissent cependant et les yeux se rouvrent. Mais bientôt se manifeste une crise nouvelle, aussi forte ou plus faible que la première et suivie d'une période de relâchement musculaire. On peut, comme chez les mammifères provoquer à volonté, le retour de ces accès pendant cette période. »

Lorsque la dose de strychnine injectée est trop forte, la

Grenouille tombe d'emblée en état de résolution musculaire, le corps est flasque; la respiration cesse, mais le cœur continue à battre. Si la quantité d'alcaloïde administrée n'est pas mortelle, la résolution musculaire cesse au bout de 12 à 36 heures en général et l'animal entre dans la période si caractéristique dite de retour, pendant laquelle il présente des accès identiques à ceux décrits plus haut. On voit donc l'intérêt qu'il y a à ne pas injecter une dose trop forte d'alcaloïde, pour observer les symptômes caractéristiques. La réaction hydrostrychnique que l'on aura faite, préalablement, permettra d'effectuer un dosage et d'éviter cet inconvénient.

Variation de la sensibilité avec l'espèce de Grenouille.

Les différentes espèces de Grenouille ne sont pas également sensibles : la Grenouille verte (*Rana esculenta*) réagit à de plus petites doses que *Rana temporaria*, la Grenouille rousse. Il faut aussi tenir compte de la saison, les doses de strychnine nécessaires pour reproduire le même effet sont plus faibles l'été, période de vie active, que l'hiver, saison de vie ralentie.

Influence de la chaleur.

Colin (14) a recherché les facteurs susceptibles de rendre plus grande la sensibilité de la Grenouille et il a noté au premier plan, la température. Il avait été précédé dans cette voie, d'un point de vue plus général, par Kunde (62) et Luschsinger, puis par Stoknis, Richet et Langlois (64), qui avaient montré que la dose convulsive minima d'un poison décroissait avec la température organique de l'animal.

La Grenouille se prête aisément à une variation de température; elle prend peu à peu, celle du milieu ambiant. La température de la Grenouille peut aller de 0 à 32°, sans inconvénient; à 33, 34°, elle est incommodée, mais elle résiste encore à une température de 37°. Au-dessus, elle perd sa sensibilité, mais le cœur continue à battre et elle revient à l'état normal lorsqu'on la plonge dans de l'eau froide. Claude Bernard, qui, le premier a signalé ce fait, l'a appelé « anesthésie par la chaleur ». Voici quelques-uns des résultats obtenus

par Colin : il a d'abord pris six sujets de grosse taille dont le poids variait de 45 à 57 grammes, il leur a fait une injection de 0 mg.05 de sulfate de strychnine par la voie sous-cutanée; trois furent abandonnés à la température du laboratoire à 17° et les trois autres furent placés à 37° à l'étuve. Les trois premiers ne présentèrent qu'un peu d'hyperexcitabilité et d'accélération de la respiration; les autres furent pris de crises tétaniques au bout de 75 minutes de séjour à l'étuve, crises qui se renouvelèrent pendant trois ou quatre heures, pour disparaître complètement ensuite.

Il a également employé des grenouilles plus petites, de 9, 11 et 12 grammes, qui reçurent chacune 0 mg. 02 de sulfate de strychnine en injection sous-cutanée, ce qui représente respectivement 2,2; 1,8; 1,6 mg par kilogramme d'animal; elles furent placées à l'étuve à 32°. On observa de violentes crises tétaniques au bout de 10 minutes; l'une d'elles qui ne séjourna qu'une demi-heure à l'étuve, fut ensuite plongée dans de l'eau à 8° et se remit par la suite. Les deux autres restèrent 1 heure et demie et 2 heures à l'étuve et ne purent être ramenées à la vie même par immersion dans de l'eau froide.

Influence du froid.

La chaleur amène une disparition plus précoce des accidents, fait attribué par Colin à une élimination plus rapide du toxique. Le froid au contraire la ralentirait et prolongerait la durée des symptômes. Colin a injecté 0 mg. 03 de sulfate de strychnine à trois grenouilles pesant 8, 9 et 11 grammes, et placées ensuite dans de l'eau contenant de la glace et disposée de plus à l'intérieur d'une glacière. Les convulsions n'ont commencé qu'après deux heures de séjour à la glacière et pourtant la quantité de sulfate de strychnine injectée était forte : elle était de 3 mg. 7 par kg. pour la grenouille de 8 g. Par d'autres expériences, l'auteur a confirmé ce fait que la dose minima mortelle de strychnine est augmentée lorsque la température s'abaisse.

Influence de l'ablation du foie.

Pour Roger (95) le foie a la propriété de fixer pendant un certain temps la strychnine, il la libère ensuite par petites quantités pour être éliminée; se basant sur cette observation, Colin pensa que l'ablation du foie sensibiliserait la Grenouille à l'action de la strychnine. Cet animal, privé de son foie peut survivre quelques jours encore. Il prit trois grenouilles A, B, C, pesant respectivement 26,26 et 20 grammes, A étant privée de son foie, les deux autres étant intactes. A et B reçurent 0 mg. 01 de chlorhydrate de strychnine sous la peau et C 0 mg. 015. 40 minutes plus tard, A fut prise d'une violente crise tétanique et le lendemain on la trouva morte; B, ne présenta aucun phénomène notable et C, qui eut une crise en même temps que A, était remise le lendemain. Une dose de 0 mg. 38 de chlorhydrate de strychnine par kg. a donc suffi à provoquer la mort, avec les symptômes caractéristiques chez une grenouille privée de son foie. C, après avoir présenté des convulsions, a résisté à 0 mg. 75 par kg.

Techniques préconisées

Ce qui précède, montre que la Grenouille est un réactif physiologique très sensible de la strychnine. Ce fait a été mis à profit de différentes façons.

Technique de Tardieu (109)

« On fait choix de trois grenouilles de même taille et l'on dispose sur une table trois vases de 2 litres chacun, que l'on remplit d'eau ordinaire. A l'aide d'un bistouri, on pratique à la partie interne de la cuisse de chaque grenouille une incision peu profonde qui coupe la peau et met les muscles à nu; on pratique un petit décollement en cul-de-sac, au moyen d'un tube de verre plein sur chacun de ces animaux. Sur la première grenouille, on introduit dans le fond de la plaie une petite quantité de strychnine pure réduite en poudre, représentant environ 2 milligrammes; sur la seconde, on introduit une quantité à peu près égale de résidu suspect, résultant

des opérations chimiques; on n'introduit rien dans la troisième Grenouille qui est destinée à servir de témoin. Chaque incision est alors recousue et chaque grenouille est ensuite jetée et abandonnée à elle-même dans un des vases bien étiquetés. Lorsque le résidu suspect renferme de la strychnine, on est frappé au plus haut point par la similitude des contractions qu'on observe sur les deux premiers animaux ». Il est très facile de suivre les mouvements des grenouilles dans l'eau, c'est un avantage sur lequel l'auteur insiste. Un inconvénient certain, c'est qu'il y a dissolution d'une partie de l'alcaloïde dans l'eau, ce qui permet d'ailleurs l'observation des contractions tétaniques, les doses d'alcaloïde conseillées par Tardieu étant beaucoup trop grandes produiraient d'emblée la résolution musculaire, si elles étaient totalement absorbées.

Technique de Gallard (40).

Gallard recommande de déposer une goutte de la solution suspecte sur la moelle épinière ou sur les muscles dénudés de la Grenouille. Il faut éviter de se servir de ce procédé, Harley a montré qu'une solution même concentrée d'acétate de strychnine déposée sur la moelle épinière de la Grenouille, ne produit pas de convulsions.

Technique de Pouchet (57).

Pouchet tient compte du fait qu'une quantité trop forte de strychnine peut provoquer la mort, sans contractions tétaniques caractéristiques. Il pèse le résidu provenant de l'évaporation de la benzine et qui lui a fourni déjà les réactions générales des alcaloïdes et plus ou moins nettement celles de la strychnine. Il en fait une solution légèrement acétique dont 1 cm³ correspond à 0 mg. 1 de résidu, et il injecte cette solution par quart de cm³ chez la Grenouille, en attendant au moins une heure entre chaque injection au cas où la première n'a produit aucun effet.

Technique de Colin (14)

L'injection est faite dans le sac lymphatique dorsal, c'est-à-dire sous la peau du dos. On sait en effet que le corps de la Grenouille est plongé dans un vaste sac lymphatique que des cloisons divisent en plusieurs compartiments. L'aiguille de la seringue est choisie très fine, elle est enfoncée sous la peau du dos d'arrière en avant et assez profondément pour empêcher la sortie du liquide, on la retire avec précaution pour la même raison. Après l'injection, les animaux sont placés sur des assiettes et recouverts avec des entonnoirs en verre.

Nous avons tenu à indiquer après ces procédés, celui de Christison et de Marshall Hall (19) qui se propose à la fois la recherche de la strychnine et le dosage approximatif : un grain (0 g. 05) d'acétate de strychnine est dissous dans la quantité suffisante d'eau. La solution est placée dans une éprouvette graduée, on en prend le centième qu'on verse dans 30 grammes d'eau distillée et on y plonge une grenouille; on ajoute un millième de grain d'heure en heure, jusqu'à trois centièmes et un trente-troisième de grain. En opérant de même avec la matière cristallisée extraite par les experts on a une idée sur la quantité de strychnine. Ce procédé fut un des premiers indiqués pour la caractérisation physiologique de la strychnine. De Meyrignac (19) l'a rapporté dans sa thèse en 1859.

Récemment, W. Koll (60) s'est servi de la Grenouille pour doser la strychnine contenue dans un résidu éthéré impur : des grenouilles d'un poids déterminé (environ 27 grammes) reçoivent 0 cm³ 5 d'une solution aqueuse de strychnine dans les sacs lymphatiques ventraux. A une série de Grenouilles identiques, on injecte une solution de sulfate de strychnine, de façon à faire varier la quantité de strychnine base, par gramme d'animal de 0,6 à 3 g. On compare les résultats obtenus et on en déduit la quantité de strychnine contenue dans la solution aqueuse.

Emploi de la Larve de Grenouille (60).

Pour montrer que les filtres retiennent de la strychnine, Koll a employé un test biologique très sensible, il s'agit de

la Larve de Grenouille à un stade déterminé de ses métamorphoses. La Larve de Grenouille à son éclosion est purement aquatique, c'est le têtard. Bientôt les branchies de celui-ci se raccourcissent, ses poumons se développent, sa queue s'atrophie et les membres antérieurs, puis postérieurs, font leur apparition. Koll l'utilise à ce stade; les larves employées par l'auteur pesaient 0 g. 20 et réagissaient à 0 mg. 0003 de strychnine d'une façon caractéristique. On leur injectait 0 cm³. 01 d'une solution de strychnine et de chlorure de sodium sous la peau; elles présentèrent une inertie passagère, mais nageaient lorsqu'on les touchait. Après quelques minutes, elles étaient prises de tétanos et les crises entrecoupées de rémission reprenaient lorsqu'on les touchait. Pour pratiquer les injections, les membres sont fixés par des épingles, l'aiguille est introduite à la base de la queue et poussée sous la peau du dos.

Ce procédé délicat a l'inconvénient de nécessiter un matériel : aiguilles, seringue, que l'on n'a pas à sa disposition en général et un animal que l'on ne peut se procurer qu'à une certaine époque de l'année.

Précautions à prendre dans la recherche physiologique de la strychnine.

Le résidu supposé contenir de la strychnine doit être soluble en milieu aqueux; pour cela on le reprend par une trace d'acide acétique et un peu d'eau, on chasse l'excès d'acide en évaporant à sec et l'on dissout de nouveau dans un volume déterminé d'eau. Le liquide est alors prêt pour être injecté. Il ne faut pas employer l'alcool comme solvant, une dose non toxique d'alcool pouvant neutraliser une dose toxique de strychnine.

Sensibilité de la Grenouille à l'action de la strychnine.

Dellas (18) est arrivé à des conclusions assez vagues. Il a utilisé la piqûre intramusculaire dans la cuisse de sujets très forts, pesant de 25 à 70 grammes. D'après lui, les doses de 1 à 3 milligrammes de sulfate de strychnine par kilogramme pro-

duisent des convulsions, sans amener la mort. Il n'indique pas l'espèce de Grenouille dont il s'est servi.

Colin (14), a fait ses expériences en février et en mars et il a conclu que, dans le cas de *Rana esculenta* : une dose de 3 milligrammes de sulfate de strychnine par kg. a produit le tétanos en 25 minutes et la mort en 4 heures 30, chez un sujet de 10 grammes ; ue quantité de 2 milligrammes par kg. a fait apparaître le tétanos en 20 minutes et la mort en 4 heures chez une grenouille de 16 g. ; des doses de 1 mg. 33 et 1 mg. 42 par kg. chez des grenouilles pesant respectivement 15 g. et 8 g. 50 ont produit des accès, mais les animaux ont survécu. Au-dessous de 1 mg. 2 par kg. il n'a pas obtenu de phénomènes caractéristiques à 17°. A 32-33°, 1 mg. 6 par kg. constitue une dose mortelle et à partir de 0 mg. 5 par kg., on obtient des convulsions.

TRAVAUX PERSONNELS

Nous avons utilisé la Grenouille verte et la technique de Colin ; nos expériences ont été faites au mois d'août. L'animal est placé dans un cristalliseur taré, muni d'un couvercle pour être pesé ; on le prend ensuite dans la main gauche, ses membres postérieurs sont étendus et retenus par le pouce qui s'appuie sur la paume de la main ; il ne peut glisser dans ces conditions et il reste bien immobile. Le volume injecté doit être faible, on maintient la grenouille dans la même position pendant deux ou trois minutes encore après l'injection. Une partie du liquide pourrait s'échapper par suite des mouvements de l'animal, si on le mettait immédiatement sous l'entonnoir. Pour l'injection, nous nous sommes servi d'une seringue de 1 cm³ divisée en dixièmes de cm³.

Nos résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

TABLEAU N° 13

N°s	Poids des grenouilles en g.	Température du laboratoire	Strychnine injectée en mg.	Strychnine injectée par kg. d'animal	Volume injecté en cm ³	Observations
1	9,10	26	0,005	0,54	0,5	aucun symptôme
2	12,05	25	0,008	0,66	0,4	—
3	11,10	24	0,009	0,81	0,9	—
4	7,30	25	0,006	0,82	0,3	rigidité
5	5,18	25	0,006	1,15	0,6	crises, rétablie le lendemain.
6	8,06	24	0,010	1,24	0,5	—
7	6,98	27	0,009	1,29	0,9	—
8	5,71	26	0,0075	1,31	0,7	—
9	6,45	25	0,010	1,55	0,5	—
10	6,83	24	0,012	1,75	0,6	—
11	9,04	25	0,016	1,77	0,4	crises, est trouvée morte le lendemain
12	4,91	26	0,009	1,83	0,4	—
13	7,50	26	,014	1,86	0,7	—
14	5,29	27	0,010	1,88	0,5	—
15	5,26	26	0,010	1,90	0,5	—
16	6,43	25	0,014	2,17	0,7	—
17	9,06	24	0,020	2,20	0,5	—

De l'examen du tableau précédent, il résulte qu' à partir de 1 mg. 15 de strychnine base par kg. la Grenouille verte présente des convulsions à 25°, une dose de 1 mg. 77 est mortelle dans les mêmes conditions. Ces deux chiffres représentent respectivement 1 mg. 47 et 2 mg. 26 de sulfate de strychnine; ils se rapprochent des chiffres indiqués par Colin.

Cas d'un mélange de strychnine et de brucine.

Il était intéressant de voir si la brucine augmente ou diminue la sensibilité de la Grenouille à la strychnine. Dans ce but, nous avons préparé des solutions contenant des quantités égales de strychnine et de brucine que nous avons injectées à des Grenouilles vertes. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau ci-contre.

Même en présence de brucine, la Grenouille réagit d'une façon très sensible à la strychnine, mais la dose minima mortelle de ce dernier alcaloïde est notablement augmentée dans

TABLEAU N° 14

Numéros	Poids des grenouilles en g.	Température du laboratoire	Strychnine injectée en mg.	Brucine par kg. en mg.	Strychnine injectée par kg. d'animal en mg.	Brucine injectée par kg. d'animal en mg.	Volume injecté en cm ³	Observations
1	5,96	24	0,008	0,008	1,34	1,34	0,2	survie
2	14,42	26	0,028	0,028	1,93	1,93	0,7	—
3	12,36	25	0,024	0,024	1,94	1,94	0,6	—
4	9,44	25	0,020	0,020	2,11	2,11	0,5	—
5	7,15	24	0,016	0,016	2,23	2,23	0,5	—
6	9,88	25	0,024	0,024	2,42	2,42	0,6	—
7	6,11	26	0,016	0,016	2,61	2,61	0,4	—
8	10,15	26	0,028	0,028	2,75	2,75	0,7	—

ce cas. A 26°, la Grenouille n° 8 a résisté à 2 mg. 75 de strychnine base par kg. représentant 3 mg. 52 de sulfate de strychnine.

II. Action de la strychnine sur les Poissons.

L'action de la strychnine sur les Poissons a été bien étudiée par Lopez Lomba (72). Il s'est adressé à des sujets de petite taille qui lui ont permis de mettre en évidence de minimes quantités de strychnine : un vairon meurt en 86 minutes dans une solution de strychnine à 1 p. 100.000; une épineche en 52 minutes et un poisson rouge en 3 heures et demie. Une épineche succombe encore en 1 h. 54 minutes dans une solution de strychnine à 1 p. 200.000, à la température de 20°.

L'anguille est également très sensible, un sujet de 20 grammes contenu dans une solution à 10⁻⁶ de strychnine réagit d'une façon caractéristique avant la deuxième heure à 20°.

Lopez Lomba recommande de se servir de l'Épineche à queue lisse (*Gastorosteus leiurus*), on peut se procurer aisément des sujets de poids voisins.

Technique

Les épineches, choisies de façon qu'elles pèsent 1 gramme environ, sont disposées dans de petits ballons identiques de 80 cm³ avec 25 cm³ d'eau ordinaire que l'on amène à un pH voisin de 9 par addition d'une solution à 10 p. 100 de carbonate de sodium, en présence de bleu de thymol,

indicateur qui donne une teinte bleue pour les pH compris entre 8,2 et 9,8. On opère à la température de 20°.

Symptômes de l'intoxication strychnique

Les épinoches présentent des convulsions tétaniques, elles réagissent vivement au choc par le redressement des quatre épines. Il y a de plus des vomissements d'air, un ralentissement puis un arrêt de la respiration. La mort apparente survient ensuite : le poisson est couché sur le côté. On observe aussi cette phase avec l'aconitine ; elle peut d'ailleurs faire défaut et la mort se produit d'emblée. Après la mort, la couleur ocre jaune pâle devient plus foncée et présente des taches noires, l'ouïe ne change pas de couleur. Ce procédé permet de découvrir la strychnine dans une solution à 10^{-6} de strychnine, la survie est de deux heures dans une solution à 10^{-5} .

Emploi de milieux préparés aux sels biliaires.

Dans le but de rendre plus sensible la recherche, Lopez Lomba a fait varier la tension superficielle de façon à avoir un liquide fournissant 136 gouttes au compte-goutte normal. Il suffit pour cela d'ajouter quelques gouttes d'une solution de sels biliaires Poulenc à 12 p. 100. On prépare un certain volume de liquide que l'on répartit par 25 cm³ dans des ballons de 80 cm³.

Les résultats sont résumés ci-dessous.

<i>Titre des solutions de strychnine</i>	<i>Durée de la survie.</i>
1 p. 10.000.000	28 heures.
1 p. 2.000.000	105 minutes.
1 p. 1.000.000	45 minutes.
1 p. 500.000	25 minutes

Toute mort survenant avant la trentième heure permet de conclure.

Cas d'un mélange de brucine et de strychnine.

Lachaise (63) a recherché l'influence de la brucine en présence de strychnine, sur la durée de survie des épinoches.

Technique

La quantité nécessaire d'alcaloïde est dissoute dans 2 cm³ de solution $\frac{N}{10}$ d'acide chlorhydrique; on verse le tout dans un ballon jaugé de 1 litre, contenant 800 cm³ d'eau distillée, la capsule dans laquelle on a pratiqué la dissolution est lavée avec de l'eau distillée que l'on verse dans le ballon. On ajoute 2 cm³ de solution $\frac{N}{10}$ d'hydroxyde de sodium et on complète à 1.000 cm³. Au moment de l'emploi, chaque ballon de 80 cm³ reçoit 25 cm³ de liquide et une goutte de solution de carbonate de sodium à 2 p. 100.

Nous donnons ci-dessous les temps de survie observés chez l'Épinoche, avec une solution de strychnine à 1 p. 50.000, pour les comparer à ceux donnés par une solution d'extrait de noix vomique de même teneur en strychnine. Comme on le voit, le temps de survie varie d'un sujet à l'autre, pour des conditions identiques et lorsque l'on veut faire un dosage physiologique par cette méthode, en se basant sur le temps de survie, il est nécessaire de faire porter l'expérience sur une série d'épinoches.

Durée de survie de l'Épinoche dans une solution à 1 pour 50.000 de strychnine

1 ^{re} série	2 ^e série	3 ^e série
88 minutes	33 minutes	15 minutes
45 —	50 —	48 —
36 —	34 —	33 —
46 —	49 —	33 —
37 —	4 —	20 —
75 —	110 —	50 —
21 —	50 —	40 —
72 —	60 —	135 —
Temps moyen de survie :		
50	48 —	47 —

L'auteur a ensuite utilisé un extrait de noix vomique qui contenait :

0 g. 0835 de strychnine
et 0 g. 0975 de brucine

pour un gramme d'extrait.

les alcaloïdes ayant été dosés par le réactif de Bertrand.

En prenant 0 g. 2393 de cet extrait pour 1.000 centimètres cubes d'eau distillée, on obtenait une solution à 1 p. 50.000 de strychnine. Cette solution contenait 0 g. 0200 de strychnine et 0 g. 0233 de brucine pour 1000.

Durée de survie de l'Epinoche dans une solution d'extrait de noix vomique correspondant à une solution à 1 pour 50.000 de strychnine.

1 ^{re} série	2 ^e série
192	112
93	93
107	146
137	114
97	140
102	92
90	101
106	105
Temps moyen de survie :	
115 minutes	112 minutes

Le temps moyen de survie de l'Epinoche est donc plus que doublé dans une solution d'extrait de noix vomique. Après plusieurs expériences avec des extraits de noix vomique, Lachaise a voulu voir si ce fait est attribuable à la brucine. Il a répété ses essais avec les mêmes quantités de brucine et de strychnine contenues dans les extraits précédents. les alcaloïdes étaient dissous dans de l'eau distillée. Les résultats ont été les mêmes que dans le cas des solutions d'extrait de noix vomique. *L'augmentation de la durée de survie de l'Epinoche est donc due à la brucine, Nous avons démontré l'existence du même phénomène chez la Grenouille.*

La brucine présente une action phylactique par rapport à la strychnine. Dans le même ordre d'idées, Goris et Métin ont signalé l'action préventive de l'anthonine de l'*Aconitum*

anthora à l'égard de l'aconitine de l'*Aconitum napellus* L. Poursuivant ses expériences sur le Cobaye et le Chien, Lachaise a obtenu les mêmes résultats qu'avec l'Epinoche.

*Emploi de la morphine comme révélateur de
l'intoxication strychnique.*

Bachrach (3) a montré que des poissons plongés dans une solution de strychnine et n'ayant montré aucun symptôme d'intoxication, présentent des phénomènes caractéristiques lorsqu'on les met dans une solution de morphine. Ses expériences ont porté sur l'*Amniosus nebulosus*, espèce d'eau douce, ainsi que sur plusieurs poissons d'eau de mer du genre *Gobius* : *Gobius lola*; *Gobius flavescens*; *Gobius paganellus*.

Technique.

Il est important d'opérer sur des volumes constants, contenant un même nombre d'animaux, aussi identiques que possible. Un facteur important est le rapport de la surface libre au volume de liquide. On devra employer 200 cm³ d'eau de mer sous une épaisseur de 3 à 4 cm. pour un poisson du genre *Gobius* de 8 grammes.

Ces poissons sont insensibles à des solutions de morphine à 1 pour 1.000, ils réagissent très bien au contraire dans une solution de strychnine à 0 g. 0016 pour 1.000.

Signes de l'intoxication strychnique.

Les nageoires et surtout les dorsales s'étalent fortement, les animaux semblent présenter une certaine rigidité. Tout ébranlement produit chez eux un mouvement convulsif sur place, avec un déplacement brusque des nageoires : les dorsales exagèrent leur étalement, les pectorales présentent un battement saccadé. Voici un exemple !

« 10 septembre 1927.

A 15 heures, six poissons sont mis dans une solution de strychnine à 0 g. 008 pour 1.000. Le lendemain à 11 h. 15, les poissons paraissent tout à fait normaux. On en fait deux lots : 3 poissons sont mis dans une solution de morphine à 1 pour 1.000 et les 3 autres dans l'eau de mer.

A 13 heures, les poissons qui sont dans la solution de morphine réagissent comme des poissons intoxiqués par la strychnine ; les 3 autres dans l'eau de mer ne présentent rien de spécial. Après un séjour de 5 jours dans l'eau courante, les poissons qui avaient subi, pendant à peu près 2 heures l'action de la morphine, montrent toujours une excitabilité anormale, ils ont les réactions de l'intoxication strychnique. »

En employant des concentrations de morphine de 0,5 pour 1.000 de morphine, l'auteur a pu mettre en évidence 0 mg. 8 de strychnine par litre. Ce procédé lui permet donc de découvrir 0 mg. 16 d'alcaloïde, le volume de liquide utilisé étant de 200 cm³.

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous avons utilisé un test que l'on peut se procurer facilement en toutes saisons, le Poisson rouge. Le poids des sujets choisis oscillait au voisinage de 2 g. 200. Ils étaient placés dans des cristallisoirs avec 100 cm³ d'eau ordinaire, sous une épaisseur de 4 cm. ; on y ajoutait des quantités déterminées de strychnine, obtenues en mesurant des volumes connus de solutions titrées. La température du laboratoire était de 18°; nos expériences ont été faites au mois d'octobre.

Avec 0 mg. 01 de strychnine et 0 mg. 03, ce qui correspond dans le premier cas à une dilution de 10⁻⁷, nous n'avons obtenu aucune réaction, même après un séjour de 72 heures des poissons dans la solution.

Expérience n° 1.

Le 30 octobre, à 15 h. 40, un poisson rouge est placé dans 100 cm³ d'eau ordinaire contenant 0 mg. 1 de strychnine, une heure après, il est immobile au fond du cristallisoir, mais ne présente pas d'hyperexcitation lorsqu'on frappe sur la table; le lendemain, il réagit nettement par un spasme du corps au bruit causé par un agitateur tombant sur la paroi du cristallisoir. Le 3 octobre, il a été placé dans de l'eau ordinaire et a survécu. La dilution utilisée était de 10⁻⁶.

Expérience n° 2.

On a opéré comme précédemment le 31 octobre, à 14 h. 30 avec 0 mg. 3 de strychnine, les réactions observées ont été moins caractéristiques, la mort s'est produite au bout de 40 heures d'immersion dans la solution. La bouche était fermée, le corps raide.

Avec 0 mg. 3 et 0 mg. 5 de strychnine, les convulsions ont été

nettes au bout de 20 heures; en frappant sur la table avec un agitateur à une cadence rapide, on notait une accélération de la respiration des poissons et ils se couchaient finalement sur le côté.

Avec 0 mg. 7, 0 mg. 8, 0 mg. 9, 1 mg., les phénomènes observés ont été les mêmes, mais ils ont été obtenus plus rapidement : dans le dernier cas, le sujet était couché sur le côté au bout de 8 heures.

Les poissons ont été placés dans de l'eau ordinaire, après 24 heures de séjour dans la solution de strychnine et ils ont survécu.

Les phénomènes que produit la strychnine chez le Poisson sont moins nets que ceux déterminés par ce même alcaloïde chez la Grenouille; d'autre part, les quantités de strychnine nécessaires sont beaucoup plus grandes.

III. Action de la strychnine sur la Souris blanche.

L'action de la strychnine sur la Souris blanche a été récemment étudiée par Alvaro Serra Nêgrão (2 bis). Il s'est servi d'un fait déjà signalé par Falk : lors de l'établissement du tétanos strychnique chez le Rat et la Souris, la queue est animée d'un mouvement extrêmement violent, plus intense et plus facile à observer que pour les autres parties du corps. Pour enregistrer ce mouvement, on munit la queue d'un stylet, l'animal étant couché. L'auteur conseille l'emploi de souris blanches, âgées de 14 à 16 jours et de poids compris entre 3 et 4 g. L'injection est faite sous la peau du dos, à la base de la queue; le volume de la seringue est de 0 cm³ 1 et elle porte des graduations correspondant à 0 cm³ 01. Dans tous les cas, le volume de l'injection ne doit pas dépasser 0 cm³ 1.

Symptômes de l'intoxication

L'animal présente une période d'excitabilité, il effectue des mouvements désordonnés, ses membres prennent peu à peu une attitude d'extension forcée, il se couche sur le côté, en décrivant un arc de concavité ventrale. Les membres sont en extension, la bouche est ouverte et les yeux fermés.

Au moindre ébranlement de la table qui le supporté, son corps est animé de convulsions et il a tendance à se placer en extension. La queue est animée de mouvements très rapides et l'amplitude va en augmentant; ces mouvements présentent des intermittences qui coïncident avec les intervalles des accès tétaniques.

Pour enregistrer le phénomène, la Souris blanche en période de convulsions, est étendue en décubitus latéral sur une planchette fixée sur un support et pouvant être amenée à hauteur voulue à l'aide d'une crémaillère. Le stylet dont on a muni la queue se déplace sur un papier fumé, collé sur un cylindre enregistreur horizontal, doué d'une vitesse connue. Il est inutile de fixer l'animal, il conserve sa position en se déplaçant.

Le cylindre enregistreur est ensuite placé verticalement pour l'inscription des temps.

Avantages de la méthode.

On n'observe pas de tétanos traumatique chez la Souris blanche; pour plus de sûreté, il vaut tout de même mieux opérer sur plusieurs animaux. Le Rat au contraire présente plus facilement du tétanos traumatique et il est sensible aux ptomaines. Les alcaloïdes de la putréfaction n'ont aucune action sur la Souris blanche.

Sensibilité de la méthode.

Les doses de strychnine utilisées ont varié de : 0mg. 001 à 0 mg. 002 de sulfate et de nitrate de strychnine, elles ont permis l'observation de convulsions caractéristiques. La précision obtenue est égale à celle fournie par la réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium.

Conclusions.

1° Les Poissons sont sensibles à l'action de la strychnine le mode opératoire que l'on est dans l'obligation d'utiliser nécessite cependant plusieurs dixièmes de milligramme d'alcaloïde et les symptômes présentés sont bien moins nets que ceux de la Grenouille ou de la Souris blanche.

2° Grâce à l'introduction directe de l'alcaloïde dans l'économie, dans ces deux derniers cas, la sensibilité obtenue est très grande; mais il est en général bien plus facile de se procurer des grenouilles que des souris blanches de 14 à 16 jours.

3° Avec 0 g. 006 de strychnine base, on a obtenu des crises caractéristiques chez une Grenouille verte de 5 g. à la température de 25°, degré de précision suffisant dans la pratique.

CHAPITRE QUATRIEME

PROCEDES D'EXTRACTION DE LA STRYCHNINE EN TOXICOLOGIE

Les procédés proposés pour l'extraction des alcaloïdes sont assez nombreux, nous décrirons ceux qui ont été utilisés particulièrement pour la strychnine. Le chimiste qui étudie une telle question est tout d'abord frappé par le grand nombre de méthodes et, en lisant les rapports d'expertises judiciaires, il voit de plus que ces techniques sont souvent modifiées. Aussi il paraît intéressant [de les examiner] de près pour arriver au choix de celle qui donne les meilleurs résultats.

1° Procédés se rapprochant de la méthode de Stas et débutant par l'épuisement des organes par l'alcool en milieu acide.

Méthode de Stas-Otto.

Elle est basée :

a) Sur la solubilité des tartrates et des oxalates d'alcaloïdes dans l'eau et l'alcool.

b) Sur la décomposition de ces sels par les carbonates acides et les hydroxydes alcalins.

c) Sur la solubilité dans l'éther des alcaloïdes ainsi libérés.

La méthode originale de Stas (103) qui avait permis à son auteur de découvrir la nicotine dans les entrailles de Fouquiès dans l'affaire Bocarmé, a subi des modifications successives qui la rendent plus précise.

Le perfectionnement d'Otto (86bis) consiste à épuiser la solution aqueuse acide privée d'alcool par de l'éther, ce qui la débarrasse des matières grasses et des glucosides.

Comme la strychnine, en particulier, est peu soluble dans l'éther, la solution aqueuse alcalinisée est traitée par le chloroforme après épuisement à l'éther.

Ogier et Kohn Abrest, ont utilisé avant le traitement par l'éther, en milieu acide, l'épuisement à l'éther de pétrole, qui se charge des matières grasses.

Valeur de la méthode de Stas-Otto

Werner Koll (60) s'est servi de la méthode originale de Stas-Otto en 1931 et a discuté les résultats qu'elle fournit.

Il opère sur du foie finement divisé, auquel il incorpore des quantités connues de strychnine. La matière est traitée par cinq parties d'alcool absolu, en présence d'acide tartrique et on prolonge le contact pendant une heure à chaud. Le filtré et le résidu sont soumis à un épuisement identique. Le liquide de lavage et le filtrat réunis sont évaporés au bain-marie, jusqu'à consistance sirupeuse; le résidu obtenu est additionné d'eau et filtré après refroidissement.

Il est agité avec de l'éther, alcalinisé par de l'hydroxyde de sodium et de nouveau traité par de l'éther qui enlève l'alcaloïde. Le résidu laissé par l'éther alcalin est purifié par la méthode habituelle, en se servant de l'acide sulfurique étendu. L'alcaloïde est dissous dans 5 centimètres cubes d'éther; 1 centimètre cube de cette solution renferme 0 mg. 34 de strychnine base si l'extraction a été complète, l'auteur ayant utilisé 2 milligrammes de nitrate de strychnine dans chacune de ses expériences.

Il a réalisé quatre expériences avec 100 grammes de foie et la réaction acide sulfurique, dichromate de potassium, a été négative dans les quatre cas.

Ce fait est dû à l'impureté du résidu; en effet, si on ajoute de la strychnine au résidu de 1 centimètre cube de la solution éthérée, on ne peut pas la mettre en évidence dans tous les cas; après addition de 0 mg. 1 de strychnine base, la réaction est douteuse, avec 0 mg. 2 elle est nette par endroits.

On pourrait attribuer aussi cette réaction négative à l'isolement incomplet de la strychnine. Cependant le résidu

dissous dans un peu d'eau légèrement acide, produit les réactions caractéristiques lorsqu'on l'injecte à la Grenouille.

Une nouvelle purification par la méthode chimique n'étant pas prudente, W. Koll a utilisé le dosage physiologique de la strychnine sur la Grenouille (*Rana esculenta*) pour se rendre compte des quantités d'alcaloïde extraites.

Les résultats qu'il a obtenus montrent que la méthode de Stas-Otto ne fournit que 15 à 30 p. 100 de la strychnine mise en œuvre.

Rodgers et Girwood (94), Bakunin et Majone (5) ont adressé des critiques semblables à la méthode de Stas-Otto, après avoir réalisé de nombreuses expériences.

Weiss et Hatcher (60) ont employé le dosage physiologique sur le résidu non purifié, pour éviter toute perte non inhérente à la méthode et ils sont arrivés à cette conclusion : on n'isole que de 15 à 40 p. 100 de la strychnine contenue dans les organes.

Méthode de Stas modifiée par Janssen (58)

Cette méthode est exactement calquée sur celle de Stas. Le résidu abandonné par la distillation de l'alcool est additionné d'eau et on filtre pour se débarrasser des matières grasses. Janssen utilise les carbonates acides et neutre de sodium pour libérer l'alcaloïde. Il a en somme décrit, avec tous les détails, la façon dont il a utilisé la méthode de Stas dans le cas de la strychnine. Les quantités d'alcaloïde, sur lesquelles il a opéré étaient toujours considérables, il recueillait les cristaux sur un filtre.

Les filtrations sont trop nombreuses dans ce procédé et dans le cas où l'on a à rechercher à la fois un barbiturique et la strychnine, l'élimination des graisses par simple filtration amène des pertes de barbiturique (Lobo).

Méthode de Prollius (92).

Les matières acidulées par de l'acide tartrique, sont mises à bouillir au moins deux fois avec de l'alcool. Le filtrat est évaporé à basse température et le liquide obtenu est alca-

linisé par de l'ammoniaque et agité avec du chloroforme. Le chloroforme séparé est additionné de 3 fois son volume d'alcool et abandonné à l'évaporation, Ce procédé est susceptible de donner de bons résultats, le chloroforme étant le meilleur solvant de la strychnine.

Méthode de Focke (35).

La matière suspecte est épuisée à chaud avec de l'alcool additionné d'acide tartrique. On filtre après refroidissement et le liquide obtenu est évaporé au bain-marie. Le résidu est repris par dix fois son poids d'eau et on ajoute à la solution un excès de baryte. Après quelques heures de contact, on verse de l'acide sulfurique en excès dans le mélange. On laisse reposer, on filtre et dans le liquide recueilli, on ajoute du chlorure de baryum qui précipite l'acide sulfurique restant. On filtre de nouveau et évapore au bain-marie jusqu'à complète disparition de l'acide chlorhydrique libéré précédemment. Le résidu est repris par de l'alcool absolu et la solution alcoolique est évaporée à sec au bain-marie.

Le nouveau résidu qui est légèrement acide est dissous dans de l'eau et épuisé par de l'éther. On se débarrasse ainsi des matières grasses; la solution aqueuse alcalinisée est reprise par de l'éther. Le résidu laissé est dissous dans de l'acide chlorhydrique.

Cette méthode est longue et a l'inconvénient d'utiliser l'éther qui est un mauvais solvant de la strychnine.

Méthode d'Orfila (84).

Son plus grand mérite est d'avoir été l'une des premières préconisées pour la recherche des poisons organiques.

Les matières sont épuisées par de l'alcool absolu au bain-marie. Le résidu abandonné par l'évaporation de l'alcool est repris par de l'eau acétique.

Méthode de Pouchet (69 et 86 ter).

Pancier, dont nous rapportons plus loin les expériences, a utilisé la méthode de Pouchet pour l'extraction de la strychnine.

Les organes finement divisés sont acidifiés par 5 p. 100 de leur poids d'acide citrique et additionnés de leur poids d'alcool à 90°. Lorsqu'il s'agit d'organes putréfiés, il est bon d'augmenter la quantité d'alcool. Le tout est placé à l'étuve à 60 degrés pendant 12 heures environ. On filtre, le résidu et le filtre sont épuisés comme ci-dessus. Après 12 heures de contact, le liquide filtré est réuni au premier et le tout est évaporé au bain-marie à consistance sirupeuse.

Le résidu est repris par dix fois son poids d'alcool à 95° et on laisse 24 heures en contact. Le liquide filtré est évaporé au bain-marie et le résidu est épuisé par un mélange de deux parties d'eau distillée et une d'alcool à 95°. On filtre sur papier. La solution de citrate d'alcaloïde est alcalinisée par de l'ammoniaque diluée au dixième et épuisée par le chloroforme.

Cette méthode est longue, mais semble bonne, les temps différents de la technique sont minutieusement indiqués. L'extraction de la strychnine se fait très bien en présence d'ammoniaque et de chloroforme.

2° Méthodes utilisant l'épuisement des organes par un acide dilué.

Méthode de Merck (82).

Cette technique est au nombre de celles indiquées par de Meyrignac.

Les matières sont soumises à une filtration pour séparer les liquides des solides. Ceux-ci sont mis à bouillir plusieurs fois avec de l'acide acétique dilué. Les liqueurs sont réunies et évaporées presque à siccité au bain-marie. Le résidu obtenu est repris par de l'alcool bouillant. Le filtrat est amené à consistance sirupeuse, l'alcaloïde est précipité par l'ammoniaque et on le recueille sur un filtre où il est lavé à l'eau froide.

Si l'alcaloïde ainsi obtenu est fortement coloré, on le dissout dans de l'acide acétique et on décolore par le noir animal. L'alcaloïde est de nouveau précipité par l'ammoniaque, on le recueille dans de l'alcool étendu et on abandonne à l'évaporation spontanée.

Cette technique ne peut convenir qu'à la recherche de très grandes quantités de strychnine. La décoloration par le noir animal est la cause de pertes importantes.

Méthode de Rodgers et Girwood (94).

Ces auteurs ont reproché à la méthode de Stas-Otto d'isoler la strychnine d'une façon très imparfaite. D'après eux, l'emploi d'un acide minéral fort est préférable à celui d'un acide organique. La strychnine résiste à l'action de l'acide sulfurique pur, même à 100 degrés, tandis que les matières organiques sont carbonisées; ils utilisent cette propriété pour la purification des résidus qu'ils obtiennent.

Les matières sont épuisées par de l'acide chlorydrique au dixième. Le filtrat est évaporé à siccité au bain-marie et le résidu est repris par de l'alcool à 90°; on filtre, la solution alcoolique est évaporée à consistance sirupeuse au bain-marie et le nouveau résidu est repris par de l'eau.

La solution aqueuse est légèrement alcalinisée par l'ammoniaque et agitée avec du chloroforme qui s'empare de la strychnine. Le résidu abandonné par l'évaporation du chloroforme est additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique pur et le tout est porté au bain-marie à la température de 100 degrés. Les matières étrangères sont carbonisées et la strychnine inaltérée passe à l'état de sulfate. On reprend par de l'eau distillée, on filtre; la strychnine est extraite du filtrat aqueux par agitation avec le chloroforme, après alcalinisation par l'ammoniaque.

L'évaporation du chloroforme laisse un résidu relativement pur.

Valeur de la méthode.

Chapuis (13) conseille d'employer cette méthode. Weiss et Hatcher s'en sont aussi servi sans avoir contrôlé l'action de l'acide sulfurique sur la strychnine à chaud.

W. Koll (60) a étudié ce point de la technique de Rodgers et Girwood et il a montré que l'acide sulfurique pur détruit partiellement la strychnine à la température de 100 degrés;

la quantité d'alcaloïde disparue est en relation avec le temps de chauffe. Il a opéré en dissolvant des quantités connues de strychnine dans de l'acide sulfurique pur; le tout était placé au bain-marie dans des vases d'Iéca pendant un temps déterminé, puis refroidi brusquement dans de l'eau glacée. La strychnine était dosée colorimétriquement par la méthode de l'auteur basée sur l'emploi du réactif de Mandelin (59).

Le tableau suivant rend compte des pertes observées :

TABLEAU N° 15

Strychnine en mg.	So ⁴ H ² concentré en cm ³	Durée du chauffage	Couleur de la solution après chauffage	Réactif de Mandelin	Strychnine retrouvée en mg.	Perte p. 100
0,4	0,5	non chauff.	incolore	0,5 cm ³	0,40	0
0,4	0,5	1 minute	—	0,5	0,38	5
0,4	0,5	3 minutes	faiblement rougeâtre	0,5	0,34	15
0,4	0,5	5 minutes	—	0,5	0,31	22
0,8	0,5	non chauff.	incolore	0,5	0,80	0
0,8	0,5	3 minutes	faiblement rougeâtre	0,5	0,71	11

Il ne faudra donc pas prolonger le temps de chauffe au bain-marie avec l'acide sulfurique pur pendant plus d'une minute et il vaudra mieux même ne pas dépasser la température de 50 degrés. Dans ce cas on peut chauffer plus longtemps sans crainte de perte appréciable.

Méthode de Dragendorff (28).

Les organes sont épuisés par de l'acide sulfurique dilué au dixième, le filtrat est évaporé à consistance sirupeuse au bain-marie. Il est repris par de l'alcool à 90° et on filtre; la solution alcoolique est évaporée au bain-marie comme précédemment et le résidu est repris par de l'eau. Il est nettement acide et on l'épuise successivement par l'éther de pétrole, la benzine, le chloroforme.

Après alcalinisation par l'ammoniaque, il est traité par l'éther de pétrole, la benzine, l'alcool anylique. La strychnine se retrouve dans la benzine.

Chapuis (13) considère ce procédé comme supérieur à celui-

de Stas-Otto, mais inférieur à celui de Rodgers et Girwood.

Marussia Bakunin et Vincenzo Majone (5), ont réussi à isoler 2 milligrammes 5 de strychnine d'une foie en contenant 3 milligrammes, par cette technique.

Cependant, elle a fourni des résultats non satisfaisants en opérant sur des rats et sur le foie humain (Koll).

La méthode de Kippenberger, se rapproche de celle de Dragendorff; Weiss a trouvé que ce dernier procédé donne de meilleurs résultats que celui de Kippenberger.

Méthode d'Ossian Henry (49)

Les matières solides sont séparées des liquides et traitées à l'ébullition par de l'eau acétique. Les liqueurs réunies et concentrées sont additionnées d'une infusion récente de noix de galle qui précipite l'alcaloïde. Le précipité est recueilli, on le lave et le décompose humide encore, par de la chaux ou de la magnésie, La masse est reprise par de l'alcool bouillant, on filtre et la solution alcoolique est abandonnée à l'évaporation spontanée.

Ce procédé a été utilisé par son auteur dans des expériences sur des lapins, des cobayes et des grenouilles.

Méthode de Allerton S. Cushmann

Les organes divisés sont traités par de l'eau acétique, on passe sur une mousseline et le liquide obtenu est filtré sur papier. Il est évaporé à consistance sirupeuse et le résidu obtenu est repris par de l'alcool à 90°. On chauffe 10 minutes en agitant et on laisse reposer. Cet épuisement est répété plusieurs fois et les diverses solutions réunies sont évaporées au bain-marie. Le résidu obtenu est dissous dans de l'eau acétique, on agite la solution avec de l'éther acétique à plusieurs reprises. On cesse cette purification lorsque le solvant ne cède plus de résidu, après évaporation; on chasse l'acétate d'éthyl restant, on alcalinise faiblement par le carbonate de sodium, puis on épuise par de l'éther acétique qui abandonne la strychnine lorsqu'on l'évapore. L'alca-

loïde encore impur est purifié de la façon suivante : on le dissout dans de l'acide acétique dilué, on amène le volume à 30 centimètres cubes et la solution est agitée à plusieurs reprises avec un mélange à parties égales d'éther et de chloroforme. On alcalinise par l'ammoniaque et on épuise par le même mélange qui s'empare de la strychnine.

Cette méthode est des plus compliquées, la purification que l'on utilise expose à des pertes, l'acétate de strychnine étant soluble dans le chloroforme.

Méthode d'Ipsen (55).

Le début de l'opération est le même que précédemment.

La durée de la macération acétique est de 24 heures.

L'alcool utilisé pour la reprise du résidu abandonné par la solution acétique titre 96°. Le filtrat alcoolique est évaporé au bain-marie, jusqu'à consistance sirupeuse ; on reprend par de l'eau et défèque à l'acétate de plomb. On filtre après repos de 24 heures, le précipité est épuisé par l'alcool à 96°. L'alcool est évaporé et on se débarrasse de l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré après avoir réuni les différents liquides qui contiennent la strychnine. Le précipité de sulfure est lavé à l'eau chaude. Le liquide filtré et les eaux de lavage sont évaporés à sec. On reprend le résidu obtenu par de l'alcool, la solution alcoolique abandonne l'alcaloïde que l'on dissout dans de l'acide acétique, on agite avec du chloroforme. On alcalinise par l'ammoniaque et traite de nouveau par le chloroforme qui laisse l'alcaloïde purifié.

Méthode de von Senkowsky (116).

Les organes divisés sont mis à macérer dans de l'eau tartrique ; on filtre, les matières protéiques et les alcaloïdes de la solution sont précipités par une solution à 10 p. 100 de tanin, exempte d'acide gallique. On se débarrasse du tanin et des matières protéiques en les précipitant par de la poudre de peau en milieu acide : dans ces conditions, l'alcaloïde reste en solution et on peut l'extraire ensuite par les procédés habituels.

Méthode de Husemann (53).

Les matières sont traitées par de l'acide chlorhydrique dilué, le filtrat obtenu est évaporé et le résidu qu'il laisse est repris par de l'alcool. Les liqueurs alcooliques filtrées sont évaporées à consistance sirupeuse au bain-marie ; on reprend par de l'eau et filtre. La solution aqueuse est alcalinisée par de l'hydroxyde de potassium et l'alcaloïde est recueilli dans du chloroforme.

Cette méthode est simple, nous donnerons plus loin quelques chiffres qui permettront de juger de sa valeur.

Méthode de Erdmann et Uslar (30).

Les matières sont réduites en bouillies très fluides et acidulées par de l'acide chlorhydrique. On effectue plusieurs digestions à des températures comprises entre 60 et 80°. Les filtrats sont neutralisés par de l'ammoniaque, additionnés de sable quartzeux et évaporés. Le résidu est repris par de l'alcool anylique bouillant. Les liquides alcooliques bouillants sont versés dans leur volume d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique. On renouvelle ce traitement jusqu'à ce que l'alcaloïde soit suffisamment pur.

D'après Thibaut (111) cette méthode doit être rejetée pour des raisons suivantes :

- 1° même bouillant, l'alcool amylique n'est pas un parfait solvant de la strychnine ;
- 2° dans le cas de l'urine, l'alcool amylique dissout l'urée ;
- 3° l'alcool amylique est un bon solvant des ptomaines.

Méthode de Magnin (73).

Les organes sont mis à macérer avec de l'acide sulfurique au cinquième ; on ajoute au filtrat une solution chaude, la plus concentrée possible, de chlorure de plomb. On centrifuge et on observe si le liquide clair surnageant, précipite encore par la solution de chlorure de plomb. Lorsqu'il ne précipite plus, on effectue l'extraction par les différents solvants indiqués par Dragendorff. L'excès de plomb qui

précipite lors de l'addition de l'ammoniaque, ne constitue pas un inconvénient pour l'extraction.

Cette défécation conduit à des pertes, les protides précipités entraînant une partie de l'alcaloïde.

3° Méthodes dans lesquelles les matières sont amenées à l'état de poudre sèche.

Méthode de Flandin (32 bis).

Les viscères sont mélangés à 12 p. 100 de leur poids de chaux ou de baryte caustique; le tout est broyé dans un mortier, puis desséché à l'étuve à 100°. La masse est épuisée par de l'alcool bouillant qui est filtré après refroidissement. La solution alcoolique est évaporée à sec et on reprend par de l'éther. Le résidu abandonné par l'éther est dissous dans de l'eau acidulée par de l'acide sulfurique. On alcalinise par de l'ammoniaque et on agite avec du chloroforme.

Méthode de Chandelon (12).

Les organes finement divisés sont mélangés avec leur poids de gypse desséché à 130 degrés. On triture dans un mortier puis on dessèche au bain-marie à la température de 70 degrés. La masse est pulvérisée et soumise à une extraction par de l'alcool à 90°. L'alcool est évaporé et le résidu qu'il laisse est repris par de l'eau distillée. On alcalinise par de l'hydroxyde de sodium, on ajoute du gypse et le tout est desséché. Après pulvérisation, la masse est épuisée par le chloroforme.

Finalement, la strychnine est précipitée à l'état d'oxalate, par une solution éthérée d'acide oxalique et le précipité est recueilli.

Ce dernier temps de l'opération sera à supprimer dans beaucoup de cas, les quantités de strychnine auxquelles on a affaire étant souvent très faibles. Ces deux méthodes paraissent susceptibles de donner de bons résultats, la poudre sèche obtenue peut être épuisée au soxhlet.

Lacour s'est servi d'un procédé qui se rapproche des deux

précédents pour caractériser la strychnine dans les plantes.

Les plantes étaient broyées avec de l'hydroxyde de calcium; desséchées, pulvérisées et placées dans une allonge où on les épuisait par de l'éther; à la solution éthérée de strychnine, on ajoutait une solution d'acide oxalique dans l'éther. Le précipité d'oxalate de strychnine était recueilli et servait à effectuer les réactions de la strychnine.

4° Méthodes fondées sur l'absorption.

D'après Dragendorff, la méthode suivante due à Graham, Hoffmann et Macadam (85), donne de bons résultats dans le cas de la strychnine.

Les organes divisés sont mis à macérer dans de l'eau acidulée par de l'acide oxalique. On filtre, on fait bouillir et filtre de nouveau. Le filtrat est mélangé avec du charbon de sang à raison de 30 grammes par litre environ. Le charbon retient l'alcaloïde, on le recueille par filtration et on l'épuise par de l'alcool bouillant dans un ballon surmonté d'un réfrigérant ascendant. L'alcool est évaporé, le résidu qu'il laisse est agité avec du chloroforme, après alcalinisation par de l'hydroxyde de potassium.

Cette méthode est délicate : les résultats obtenus varient avec l'acidité du milieu et avec la préparation du charbon.

5° Méthodes basées sur la désalbumination par l'acide trichloracétique.

Florence a préconisé l'emploi de l'acide trichloracétique en toxicologie.

Méthode de G. Florence (33).

Trois parties d'organes finement divisés sont additionnées de deux parties d'une solution aqueuse d'acide trichloracétique à 20 p. 100. On place le tout dans un mortier et on malaxe avec le pilon jusqu'à ce que les albuminoïdes soient coagulés, ce qui se reconnaît à la coloration gris sale que prend l'ensemble. Le mélange est transvasé dans un ballon pyrex à col

court et à large ouverture et porté au bain-marie 15 minutes à 35 degrés. On essore et le résidu est repris par une partie d'une solution aqueuse d'acide trichloracétique à 5 p. 100 dans le mortier. On l'épuise complètement dans un presse-viande.

Les différents liquides sont alcalinisés par le bicarbonate de potassium et agités avec du chloroforme, dans le cas de la strychnine.

Ce procédé fournit des résidus plus purs que ceux donnés par les autres méthodes.

6° Méthodes basées sur la protéolyse par les ferments.

Plusieurs auteurs ont fait remarquer la facilité avec laquelle la strychnine est absorbée par les albuminoïdes et la solidité de l'absorption ainsi obtenue. Aussi préconisent-ils la destruction des protéines par les ferments avant de procéder à l'extraction. L'alcaloïde n'est pas atteint dans cette digestion.

Méthode R. Fabre (31).

Les organes sont pulpés et délayés dans 5 parties d'eau distillée. Le mélange est porté quelque temps à l'ébullition pour détruire l'antitrypsine. Après refroidissement à 50-55 degrés, le tout est transvasé dans un flacon à large ouverture et additionné de pancréatine dans la proportion de 1 gramme pour 50 grammes d'organes. On abandonne 10 à 12 heures à l'étuve à 50-55 degrés. La protéolyse est pratiquement complète au bout de ce temps, et les matières demeurées solides sont séparées du liquide par filtration ou centrifugation. Le liquide limpide obtenu est traité par le chloroforme après alcalinisation, dans l'appareil à épuisement continu de Fayolle et Lormand.

Cette méthode qui a donné de bons résultats pour les barbituriques (en employant l'éther comme solvant), convient aussi à la strychnine.

Méthode de W. Koll (60)

Cette technique se différencie de la précédente par l'emploi de deux ferments et de milieux tampons; l'épuisement de la solution obtenue en dernier lieu se fait par le chloroforme en milieu chlorhydrique, en se basant sur la solubilité du chlorhydrate de strychnine dans le chloroforme.

Les ferments utilisés sont la pepsine et la trypsine. L'action optima du premier ferment a lieu pour $\text{PH } 2,0 + 0,4$ et celle du second pour un PH compris entre 7 et 10. On obtient des milieux tampons convenables en partant d'une solution $\frac{\text{N}}{10}$ de citrate d'ammonium et d'une solution $\frac{\text{N}}{10}$ d'acide chlorhydrique dans le premier cas; de la même solution de citrate d'ammonium et d'une solution d'hydroxyde de sodium pour obtenir un PH compris entre 7 et 10.

Voici comment l'auteur conseille d'opérer : 100 grammes d'organes finement divisés sont additionnés de 200 cm³ d'une solution à 0,4 pour 100 de pepsine dans la solution acide de citrate (PH 2,27), le tout est recouvert d'une mince couche de toluène et abandonné deux jours à la température de 38 degrés. Au bout de ce temps, on ajoute 200 cm³ d'une solution à 0,4 pour cent de trypsine dans la solution d'hydroxyde de sodium $\frac{\text{N}}{10}$ (Dans ces conditions le PH est voisin de 9).

On abandonne encore deux jours à la température de 38 degrés sous une couche de toluène. Après l'action des enzymes, il reste encore quelques particules grossières. On neutralise avec de l'acide sulfurique étendu au dixième, le volume est réduit à 150 cm³ au bain-marie; on filtre sur tampon de coton de verre et lave avec un peu d'acide dilué. Le liquide de lavage est réuni à la solution neutralisée, on ajoute 30 cm³ d'acide sulfurique étendu au dixième; la réaction est alors fortement acide. La solution est soumise à une extraction de 3 heures par le chloroforme dans l'appareil à épuisement continu de l'auteur. On ajoute de l'acide chlorhydrique pur, de façon à avoir trois molécules de ce corps par litre. Le chloroforme du

ballon de l'appareil est remplacé par du chloroforme pur et on poursuit l'épuisement pendant huit heures de rang.

Les deux liquides chloroformiques sont réunis et évaporés à sec pour chasser l'excès d'acide chlorhydrique.

Lorsque le résidu est impur, on le dissout dans quelques cm³ d'acide sulfurique à 5 pour cent et on l'agite deux fois avec du chloroforme. On alcalinise et traite à plusieurs reprises par le même solvant. L'évaporation du chloroforme laisse un résidu suffisamment pur pour qu'on puisse doser colorimétriquement la strychnine par la méthode de W. Koll.

Cette technique est longue, mais la marche des différentes opérations ne demande que peu de surveillance. Du fait de la scission des molécules albuminoïdes, on évite l'adsorption de l'alcaloïde et le rendement est meilleur. L'épuisement de la solution en milieu acide présente l'avantage de diminuer la tendance à l'émulsion et de fournir un résidu plus pur.

La purification recommandée plus haut conduit à des pertes, le sulfate de strychnine étant soluble dans le chloroforme.

7° Méthode de S. Lobo basée sur l'emploi de l'acétone (71).

S. Lobo a récemment préconisé une méthode dans laquelle le mode opératoire se rapproche de celui de Stas-Otto, mais où l'alcool est remplacé par l'acétone. L'auteur conseille d'opérer de la façon suivante :

« Les viscères finement divisés, sont introduits dans un ballon et additionnés d'une solution d'acide tartrique à 20 pour cent jusqu'à réaction franchement acide, puis de deux fois et demi leur volume d'acétone rectifié. On adapte au ballon un réfrigérant à reflux et on chauffe au bain-marie à 60 degrés. Après refroidissement, on filtre le contenu du ballon sur un filtre mouillé à l'acétone; le contenu du filtre est soumis à l'expression et lavé à l'acétone, l'acétone de lavage étant mis de côté.

« Le filtrat est introduit par petites quantités dans l'appareil distillatoire décrit dans le *Traité de toxicologie* d'Ogier et

Kohn Abrest (t. II, p. 88) et soumis à la distillation dans le vide, sous une pression de 10 à 20 cm. de mercure environ. Quand tout le premier liquide a distillé, on introduit, de la même manière, l'acétone ayant servi au lavage du ballon du résidu des viscères et du filtre. Finalement, la distillation est poursuivie jusqu'à ce que le contenu du ballon atteigne la consistance d'extrait mou.

Cet extrait est dissous à chaud, dans le ballon, dans 200 cm³ au moins d'acétone pure. Cette dissolution est facilitée par une vive agitation et, au besoin, par l'addition de quelques perles de verre. La solution trouble, ainsi obtenue, est refroidie énergiquement, si possible dans la glace, puis filtrée sur un petit filtre imbibé d'acétone. Le filtrat est reçu dans un ballon contenant quelques perles de verre. Le ballon précédent est lavé avec un peu d'acétone qui est également passé sur le filtre.

» La solution acétonique est distillée à la pression normale jusqu'à consistance sirupeuse. Ce résidu est repris par 200 cm³ d'eau et additionné de 20 à 30 grammes de sulfate d'ammonium pur. La solution est chauffée, sous vide, jusqu'à commencement d'ébullition, de manière à chasser les dernières traces d'acétone. Elle est ensuite refroidie énergiquement, puis filtrée sur un filtre mouillé. Le ballon et le filtre sont lavés avec une solution à 10 p. 100 de sulfate d'ammonium.

» On vérifie la réaction acide du filtrat et on l'épuise à trois reprises dans une ampoule à décantation, avec son volume d'éther. Les liqueurs éthérées, réunies dans l'ampoule à décantation, sont lavées avec une petite quantité d'eau distillé, puis desséchées sur le sulfate de sodium anhydre.

» Le sulfate de sodium est séparé par filtration sur du coton et l'éther est distillé. »

Dans le cas de la strychnine, l'auteur pratique des épuisements par l'éther et par le chloroforme après alcalinisation du liquide d'extraction.

Nous conseillons plutôt de passer directement à l'extraction par le chloroforme après alcalinisation par l'ammoniaque. Nous ne voyons pas l'utilité de l'emploi successif de l'éther

puis du chloroforme, ce dernier étant l'un des meilleurs solvants de la strychnine; l'éther étant au contraire l'un des plus médiocres.

Dans le cas d'organes très chargés en lipides, l'auteur conseille une reprise par l'eau du résidu de distillation de la première solution acétonique qui, habituellement, est effectuée au moyen d'acétone pure.

« Pour cela, après élimination de l'acétone par distillation, il est introduit par le tube adducteur, dans le ballon encore chaud, une quantité suffisante d'eau, puis, après avoir ouvert l'appareil, on ajoute du sulfate d'ammonium en quantité suffisante pour obtenir une solution à 10 p. cent environ. Le mélange est alors chauffé, agité énergiquement puis abandonné au refroidissement. La filtration a lieu à froid, sur un filtre mouillé de solution de sulfate d'ammonium. Le filtrat est distillé dans le vide, dans l'appareil habituel, jusqu'à consistance d'extrait mou et le résidu est repris par l'acétone, comme dans le cas ordinaire. »

L'addition de sulfate d'ammonium a pour but de flocculer des substances colloïdales qui sans cela, restent en solution et entravent les filtrations. Comme il est insoluble dans l'acétone, il précipite lors de l'addition de ce solvant, assurant une parfaite division du résidu à extraire.

Les résultats fournis par cette méthode sont comparables à ceux donnés par la méthode de Stas-Otto, Ogier, Kohn Abrest, dans le cas de la strychnine.

8° Méthodes de recherche de la strychnine dans le lait, la bière, le café (70).

Lindemann et Motten ont donné une technique relativement simple en 1893.

200 centimètres cubes de ces différents liquides sont rendus alcalins par une solution d'hydroxyde de sodium. On verse 200 cm³ de chloroforme dans un cristalliseur de 180 millimètres de diamètre et on superpose le liquide alcalinisé. Dans ces conditions, la surface de contact des deux liquides est étendue,

ce qui favorise l'épuisement. L'épaisseur de la couche chloroformique est de 7 cm. environ. Après 24 heures de contact, le chloroforme est séparé et évaporé. Le résidu est repris par de l'eau acidulée par l'acide sulfurique. Dans certains cas, il donne directement les réactions de la strychnine, mais en général il est nécessaire de le purifier en agitant avec du chloroforme la solution additionnée d'acide sulfurique étendu. Le liquide aqueux est ensuite alcalinisé et soumis à l'extraction par le même véhicule.

Méthode de Florence (33).

(cas du lait)

Pour la recherche de la strychnine dans le lait G. Florence conseille d'opérer ainsi :

« Le lait est placé dans un ballon à fond rond et il est additionné de la solution au cinquième d'acide trichloracétique, jusqu'à réaction franchement acide. On porte au bain-marie à la température de 35 degrés pendant 15 minutes. Au bout de ce temps, on filtre et le précipité est lavé avec une solution d'acide trichloracétique à 4 p. 100. Le filtrat est parfois opalescent, ce qui ne présente aucun inconvénient. Il est purifié par agitation avec de l'éther de pétrole; les dernières traces restées dans le liquide aqueux sont chassées au bain-marie et la solution est épuisée par le chloroforme, après alcalinisation par le carbonate acide de potassium. »

**9° Méthodes de recherche de la strychnine
dans les poudres bleues et les blés rouges.**

Poudres bleues.

Le décret du 14 septembre 1916 indique que les substances du tableau A, destinées à la destruction des rongeurs, des taupes et des bêtes fauves, doivent être mélangées à dix fois au moins leur poids de substances insolubles, puis additionnées d'une matière colorante intense, noire, verte ou bleue. La strychnine est à la base d'un grand nombre de ces poudres.

Les poudres bleues sont employées le plus souvent comme taupicides.

Elles contiennent en général de l'amidon, du bleu de méthylène et de la strychnine, accompagnée de brucine.

Pour la recherche de la strychnine dans ces poudres, on élimine le bleu de méthylène par une solution d'iodure de potassium et les dernières traces sont absorbées par des floches de soie. Dans la technique de François (38), la recherche qualitative de l'alcaloïde se fait à l'aide du réactif de Bouchardat. L'extraction est faite par le chloroforme en présence d'ammoniaque et le résidu abandonné par l'évaporation du chloroforme purifié, comme dans la technique de Lindemann et Motten. Après pesée de l'alcaloïde, on le dissout dans de l'eau acidulée et on effectue les différentes réactions de la strychnine.

Blés rouges (38).

Les blés rouges sont constitués en général par de l'orge ou de l'avoine empoisonnés par la strychnine et colorés par l'éosine. Ce colorant ne gêne pas pour l'extraction de l'alcaloïde : les graines entières sont épuisées par de l'acide sulfurique étendu à 1 p. 100. La liqueur est ensuite rendue alcaline par l'ammoniaque et agitée avec du chloroforme.

De tout ce qui précède, il résulte que l'extraction de la strychnine et des alcaloïdes en général, est difficile. C'est pourquoi beaucoup d'auteurs ont été amenés à proposer de nouvelles méthodes dans le but d'obtenir de meilleurs résultats. La technique de Graham, Hoffmann et Macadam peut être employée dans certains cas, de même que celle de Flandin ou de Chandelon, mais elles ne s'appliquent qu'au cas où l'on ne demande que la recherche de la strychnine. Les méthodes qui ont surtout retenu notre attention sont celles qui conviennent à la recherche des poisons organiques non volatils en même temps qu'à celle de la strychnine. Parmi ces procédés, les techniques protéolytiques ont l'inconvénient d'être longues et de se prêter mal au traitement de masses impor-

tantes. Nous donnerons plus loin des chiffres qui permettront de juger de la valeur de la méthode de Stas, Otto, Ogier, Kohn Abrest, de celles qui débutent par l'épuisement des matières à l'aide d'un acide dilué et de celle de G. Florence.

Lobo (71) a comparé sa méthode à celle de Stas-Otto modifiée et il a obtenu en général des résultats voisins.

CHAPITRE CINQUIÈME

I. METHODES DE PURIFICATION DES RESIDUS OBTENUS PAR LES METHODES D'EXTRACTION.

Les méthodes habituelles d'extraction ne fournissent pas, sauf de très rares exceptions, des résidus sur lesquels on puisse effectuer directement les réactions chimiques. Plusieurs procédés ont été préconisés pour purifier ces résidus.

1° Méthode utilisant la salification (60).

On a proposé de dissoudre le résidu dans de l'eau acidulée et d'agiter la solution avec du chloroforme. D'après Koll, l'acide sulfurique et l'acide tartrique conviennent bien pour cette opération, on doit au contraire éviter de se servir d'acide chlorhydrique.

Recherches personnelles.

Le codex signale que le sulfate de strychnine est partiellement soluble dans le chloroforme. Nous avons vérifié ce fait en agitant pendant dix minutes dans une ampoule à décantation 10 cm³. d'eau distillée contenant 0 mg. 1 de strychnine base sous forme de sulfate avec 20 cm³ de chloroforme. Ce solvant évaporé a laissé un résidu contenant 0 mg. 0122 de strychnine base. En recommençant la même expérience avec 0 mg. 5 de strychnine sous forme de sulfate et en dosant comme précédemment le sulfate de strychnine enlevé par le chloroforme par la réaction hydrostrychnique on a trouvé 0 mg. 075.

Nous avons reproduit la seconde expérience en remplaçant le sulfate de strychnine par 0 mg. 5 de strychnine sous forme de tartrate, le chloroforme a enlevé dans ces conditions 0 mg. 04 de strychnine base.

En effectuant de nouveau les trois essais cités, en rempla-

gant le chloroforme par l'éther, ce dernier véhicule a laissé un résidu qui n'a pas présenté la réaction hydrostrychnique.

Dans une troisième série d'expériences où le chloroforme était remplacé par un égal volume d'éther de pétrole, on a vu que :

0 mg. 5 de strychnine base sous forme de sulfate abandon-
nant 0 mg. 003 de strychnine base à l'éther de pétrole.

0,1..... 0 mg. 001

0,5..... de tartrate 0 mg. 002

0,1..... — — 0

Cette solubilité très faible du tartrate et du sulfate de strychnine dans l'éther de pétrole justifie l'emploi de ce solvant dans la méthode de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest. Il faudra au contraire éviter la purification au chloroforme qui amène des pertes importantes allant de 8 p. 100 à 15 p. 100 dans les expériences où on a utilisé 0 mg. 5 de strychnine base sous forme de tartrate et de sulfate. Nous avons vérifié que l'acétate de strychnine est également soluble dans le chloroforme.

2° Emploi des réactifs généraux des alcaloïdes.

Un second groupe de procédés se sert dans ce but des réactifs généraux des alcaloïdes ; ce n'est pas là non plus une solution parfaite, ces réactifs ne précipitant pas uniquement les alcaloïdes, mais c'est tout de même là qu'on trouve quelques-unes des techniques les plus satisfaisantes.

a) *Emploi du tanin* (110).

A. Tardieu et Z. Roussin l'ont utilisé dans l'expertise des organes de la femme Pégard. Le résidu sirupeux laissé par la méthode de Stas était délayé dans deux fois son volume d'eau et le tout filtré sur un papier mouillé. Le filtre et le résidu de matières grasses étaient lavés convenablement avec de l'eau distillée. Toutes les liqueurs étaient réunies dans une éprouvette bouchant à l'émeri et additionnées d'une solu-

tion concentrée de tanin, jusqu'à cessation de précipitation. Le précipité gris blanchâtre gagnait rapidement le fond de l'éprouvette. Au bout de vingt-quatre heures, le liquide surnageant était siphonné et le précipité lavé avec de l'eau distillée contenant du tanin.

Après séparation du liquide surnageant, le précipité encore humide était placé dans une capsule avec un lait clair d'hydroxyde de plomb. Le mélange était abandonné à l'évaporation sous une cloche renfermant de la chaux caustique. On obtenait ainsi une poudre sèche que l'on introduisait dans un ballon avec 80 cm³. d'alcool à 85° et le tout était soumis à une digestion de une heure à 60°. On épuisait le précipité deux autres fois de la même façon.

Les liqueurs alcooliques évaporées laissèrent un résidu mielleux encore très impur. Prise isolément, cette technique est nettement insuffisante pour purifier les résidus.

*b) Emploi du réactif de Vry-Sonnenschein (66).
(réactif phosphomolybdique).*

On peut régénérer facilement l'alkaloïde du précipité fourni par ce réactif. Sonnenschein s'en est servi dans plusieurs expériences de la façon suivante :

« Le mélange à examiner est épuisé par de l'eau chlorhydrique; la solution obtenue est amenée à consistance sirupeuse par une évaporation à 30°; on filtre et traite par un excès d'acide phosphomolybdique. On sépare le précipité qui se forme, on le lave avec de l'eau contenant un peu de réactif et de l'acide nitrique, puis on l'introduit dans un ballon. Après addition d'un léger excès de baryte caustique on chauffe... on neutralise le résidu par un courant de gaz carbonique, puis on épuise par de l'alcool concentré. »

*c) Emploi du réactif de Scheibler (66).
(acide phosphotungstique).*

D'après Scheibler, ce réactif a l'inconvénient de précipiter les matières pectiques et les matières colorantes. Cet incon-

venient ne lui est d'ailleurs pas particulier, surtout en ce qui concerne les matières colorantes.

En l'absence des deux éléments de trouble précédents on peut régénérer l'alcaloïde du précipité donné par ce réactif en le traitant par de la chaux ou de la baryte qui laissent des phosphotungstates insolubles, la masse est épuisée par le chloroforme.

d) Méthodes utilisant les iodures complexes (66).

I. Réactif de Dragendorff.

(iodure double de bismuth et de potassium).

Le précipité produit par le réactif dans la solution contenant l'alcaloïde est additionné d'hydroxyde de sodium ou de potassium. La liqueur blanchâtre obtenue est épuisée par le chloroforme. L'alcaloïde sera d'autant plus pur qu'on aura décomposé plus rapidement le complexe bismuthique. Les précipités donnés par le réactif de Dragendorff sont très peu stables, aussi ce procédé de purification n'est pas recommandable.

II. Réactif de Bouchardat.

(réactif iodo-ioduré)

Le résidu à purifier est repris par de l'eau aiguisée par de l'acide chlorhydrique $\frac{N}{10}$ on ajoute du réactif de Bouchardat jusqu'à cessation de précipitation. Le précipité de couleur brun chamois est recueilli par filtration; il entraîne avec lui des impuretés dont il faut se débarrasser. Pour cela, le précipité est traité par du thiosulfate de sodium $\frac{N}{10}$, les impuretés restent sur le filtre. Dans le liquide clair recueilli, on ajoute de nouveau du réactif de Bouchardat jusqu'à cessation de précipitation; le précipité est recueilli sur un filtre et lavé.

Le filtre est percé et le complexe alcaloïdique est entraîné dans un petit Erlenmeyer, on fait passer quelques bulles d'anhydride sulfureux, le liquide se décolore et l'alcaloïde

est transformé en sulfate; on alcalinise par le carbonate de sodium et épuise par le chloroforme (*cours de toxicologie professé au Val-de-Grâce, 1931*).

*III. Réactif de Mayer (110).
(iodure de mercure et de potassium).*

Dans l'analyse des viscères de la femme Pégard, dont nous avons déjà parlé plus haut, le résidu laissé par la purification au tanin était encore très impur. Après avoir réalisé certaines expériences, A. Tardieu, Lorain et Z. Roussin utilisèrent le réactif de Mayer pour amener la strychnine à un état de pureté suffisant.

Le résidu était délayé dans 10 cm³. d'eau distillée et 3 gouttes d'acide chlorhydrique, on chauffait au bain-marie pour rendre complète la dissolution et on filtrait sur papier mouillé, on lavait le filtre avec 5 cm³. d'eau distillée. L'ensemble des liqueurs était additionné de réactif de Mayer jusqu'à cessation de précipitation : le dépôt était lavé à deux reprises avec de l'eau distillée. On le versait ensuite tout humide dans une capsule de porcelaine et on l'additionnait de sulfure d'ammonium pour précipiter le mercure. Sans filtrer, on plaçait le tout au bain-marie jusqu'à évaporation complète. Le résidu était épuisé par de l'alcool à 85° que l'on filtrait. Les liqueurs alcooliques réunies étaient évaporées à sec et le résidu qu'elles laissaient était repris par de l'eau acide, on alcalinisait par le carbonate de potassium et épuisait par le chloroforme.

Les résultats obtenus furent excellents et les auteurs purent joindre à leur rapport une capsule et un verre de montre contenant des cristaux de strychnine et de chlorhydrate de strychnine.

II. RECHERCHES PERSONNELLES.

L'emploi du réactif de Mayer a donné comme on l'a vu de bons résultats à Tardieu, Lorain et Roussin pour la purification de la strychnine. Conseillé par M. le professeur Labat, nous avons étudié en détail cette méthode, (109), en la modifiant pour permettre la recherche de traces infimes de strychnine.

Choix d'un réactif.

L'iodure double de potassium et de mercure est connu comme réactif des alcaloïdes depuis le jour où Winkler (66) ajoutant une solution de chlorure de mercure II à une solution de quinine contenant de l'iodure de potassium, obtint un précipité d'iodomercurate de quinine.

En 1862, Mayer (81) en Amérique et Valser (114) en France, ont l'un et l'autre donné une formule. Celle de Valser est préparée en vue de la recherche des alcaloïdes : 10 g. d'iodure de potassium sont dissous dans 10 cm³. d'eau distillée et mis en contact avec un excès d'iodure de mercure II pendant quelques temps; on filtre. Celle de Mayer a été destinée par son auteur au dosage des alcaloïdes : 2 g. 71 de chlorure de mercure II et 10 g. d'iodure de potassium sont dissous dans une quantité suffisante d'eau pour obtenir 200 g. de réactif; il contient un excès d'iodure de potassium. Al. Ionesco-Matiu et H. Varcocivi (54) ont préconisé une formule se rapprochant de celle de Valser :

Iodure de mercure II	15 g.
Iodure de potassium	10 g.
Eau distillée	Q. S. 100 m ³ .

Denigès (26) s'est servi pour l'imprégnation des papiers destinés à la recherche du mercure, de l'arsenic et de l'antimoine,

du réactif de Mayer additionné d'une solution saturée de chlorure de mercure II jusqu'à obtention d'un précipité permanent d'iodure de mercure II; on ajoute une pincée de talc et on filtre.

Sensibilité du réactif.

La sensibilité des différentes formules est en relation avec la quantité d'iodure de potassium en excès; ce sel intervient en effet pour dissoudre en partie les précipités formés. C'est pourquoi le réactif de Valsér est plus sensible que celui de Mayer pour la recherche des alcaloïdes. Tenant compte de ce fait connu nous avons fait choix du réactif de Denigès qui est saturé d'iodure de mercure II et que l'on prépare par 10 ou 15 cm³. au moment de l'emploi, à partir du réactif de Mayer et de la solution saturée de chlorure de mercure II.

Ce réactif précipite encore une solution renfermant 6 mg. par litre de strychnine correspondant à une dilution de 1 p. 166.600.

Description de la technique

Précipitation de la strychnine.

La solution contenant la strychnine est placée dans un tube de centrifugeur effilé de 10 cm³, on ajoute le réactif iodo-mercurique; on agite le tube entre les doigts, le précipité se prend alors en grumeaux qui gagnent assez rapidement le fond. Lorsque le précipité est peu volumineux et se dépose en laissant un liquide surnageant louche, on a intérêt à ajouter une goutte de solution acéto-albumineuse de Denigès¹, il se forme un précipité abondant qui englobe l'alcaloïde. Au bout d'un certain temps, le tout est centrifugé, le liquide surnageant est décanté et le culot est mis en suspension dans 1 cm³ d'eau distillée. On centrifuge de nouveau et rejette l'eau de lavage.

1. Cette solution est obtenue en agitant un blanc d'œuf dans un flacon de 250 cm³ avec 150 cm³ d'eau et 3 cm³ d'acide acétique pur et en filtrant.

Régénération de l'alcaloïde.

Le précipité est mis en suspension dans 4 cm³ d'eau distillée et on fait passer un courant lent d'hydrogène sulfuré pendant dix minutes. Le mercure est précipité et l'alcaloïde passe en solution; on centrifuge, le liquide décanté est reçu dans une petite capsule de porcelaine, le précipité de sulfure de mercure est agité avec 2 cm³ d'eau distillée, on centrifuge de nouveau et l'eau de lavage est également versée dans la capsule, le tout est évaporé au bain-marie. Le résidu obtenu est légèrement jaune en général; il est dissous dans 5 cm³ d'eau distillée, on ajoute 20 cm³ de chloroforme et de l'ammoniaque diluée au dixième jusqu'à réaction alcaline au papier de tournesol; on transvase dans une ampoule à décoloration. On agite pendant dix minutes, le chloroforme est décanté, le liquide aqueux est de nouveau épuisé par 10 cm³ de chloroforme. L'ensemble du chloroforme est réuni dans une capsule et évaporé au bain-marie. Le résidu est dissous dans une quantité convenable d'acide chlorhydrique dilué à 1 p. 100; le dosage de la strychnine extraite a été pratiqué en se servant de la réaction hydrostrychnique, selon la seconde technique que nous avons indiquée page 59 les résultats obtenus sont résumés au tableau n° 16. Pour l'expérience n° 19 par exemple, le résidu a été dissous dans 50 cm³ d'acide chlorhydrique au centième et cette solution a été comparée à un étalon à 0 mg. 6 p. 100 de strychnine.

Remarques : 1° L'évaporation de la solution alcaloïdique obtenue après le passage de l'hydrogène sulfuré et l'extraction chloroformique doivent être faites sans attendre; il pourrait sans cela y avoir libération d'une quantité assez importante d'iode aux dépens de l'acide iodhydrique formé lors du passage du courant d'hydrogène sulfuré.

2° Nous avons substitué l'emploi de l'acide sulfhydrique au sulfure d'ammonium préconisé par Tardieu : le précipité est brassé par le courant gazeux et l'alcaloïde passe facilement en solution dans ces conditions.

TABLEAU N° 16.

Nméros des tubes	Strychnine en mg.	Volume de solution en cm ³	Volume de réactif ajouté en cm ³	Durée de la précipitation	Strychnine extraite en mg.	Taux d'extraction
1	10	10	5	24 h.	9,600	96 %
2	5	5	5	24 h.	4,750	95 —
3	4	5	1	15 min.	2,640	66 —
4	4	5	2	30 min.	3,720	93 —
5	2	5	2	30 min.	1,800	90 —
6	1	5	2	30 min.	0,770	77 —
7	1	1	1	24 h.	0,800	80 —
8	1	1	0,5	24 h.	0,940	94 —
9	0,9	5	2	30 min.	0,630	70 —
10	0,8	5	2	30 min.	0,536	67 —
11	0,7	5	2	30 min.	0,420	60 —
12	0,5	1	2	30 min.	0,294	58 —
13	0,5	1	2	30 min.	0,317	63 —
14	0,5	1	0,1	24 h.	0,461	92 —
15	0,5	1	0,1	24 h.	0,430	86 —
16	0,4	1	0,1	12 h.	0,360	90 —
17	0,4	1	0,1	12 h.	0,380	95 —
18	0,3	1	0,1	12 h.	0,249	83 —
19	0,3	1	0,1	2 h.	0,228	76 —

Influence du volume de réactif. — On a intérêt à ne pas utiliser un excès de réactif : 1 cm³ du réactif utilisé peut précipiter 15 mg. de strychnine environ et 21 de brucine.

Dans les expériences n° 10 et 11 où la quantité de réactif est élevée, si on la compare à la proportion de strychnine, les taux d'extraction ont été nettement inférieurs à ceux qu'on a obtenus dans la plupart des autres cas.

Dans l'expérience 7 où les conditions ont été les mêmes que pour l'expérience 8, le taux d'extraction a été de 80 p. 100 dans le premier cas et 94 p. 100 dans l'autre, le meilleur résultat obtenu dans cette dernière expérience est dû à l'emploi d'une quantité de réactif précipitant deux fois moindre.

Influence de la durée de précipitation. — Le temps de précipitation influe sur le taux d'extraction : dans l'expérience n° 19 où les conditions sont les mêmes, le temps de précipitation mis à part, qu'au numéro 18, le résultat obtenu a été plus élevé pour le numéro 18, la durée de précipitation ayant été six fois plus grande que pour le n° 19.

De l'ensemble des faits précédents, il résulte que l'on aura intérêt :

- 1° à concentrer l'alcaloïde sous un petit volume;
- 2° à ne pas employer un excès de réactif;
- 3° à prolonger la durée de contact de la solution et du réactif.

III. Application de la méthode de purification proposée à la recherche de la strychnine dans l'urine.

Les volumes d'urines sont parfois considérables en égard à la quantité d'alcaloïde contenue. La concentration de l'urine est donc la première opération à effectuer, nous avons mis à profit dans ce but, la résistance de la strychnine à la chaleur : elle fond à 268° et ne se décompose qu'au-dessus de 315°.

Concentration de l'urine.

L'urine acidifiée par de l'acide tartrique, est additionnée d'une goutte d'huile d'olive et placée dans un ballon de 1 litre qu'on a soin de ne remplir qu'à moitié. Le ballon est réuni à un réfrigérant descendant, son contenu est porté à l'ébullition, sans chauffer trop fortement. Le volume de l'urine est réduit au tiers. Pour cela, on note le volume de liquide distillé en le recueillant dans une éprouvette graduée. En opérant convenablement la température du liquide du ballon ne dépasse pas 115 à 120°, en général, vers la fin de l'opération. Si l'on pousse trop loin la concentration, il se forme des matières goudronneuses, surtout avec les urines du Lapin, dont il est très difficile de se débarrasser car elles précipitent par le réactif iodo-mercurique.

Extraction de la strychnine.

Après refroidissement, on ajoute 100 cm³ de chloroforme dans le ballon (dans le cas où on a opéré sur 200 cm³ d'urine) et de l'ammoniaque diluée au dixième jusqu'à réaction alcaline au papier de tournesol. On agite violemment de façon à émulsionner la masse et à obtenir ainsi un contact intime

entre le solvant et l'urine. On abandonne douze heures. Au bout de ce temps, le tout est versé dans une ampoule à décantation et on recueille le chloroforme, la partie du liquide encore émulsionnée est reçue sur un filtre sec qu'on lave ensuite avec un peu de chloroforme ainsi que le ballon et l'ampoule.

L'ensemble des liquides chloroformiques est réuni dans une capsule et évaporé au bain-marie. Le résidu obtenu est très impur.

Purification du résidu.

Le résidu est repris par 5 cm³ d'eau distillée acidifiée par une goutte d'acide chlorhydrique, on le met en suspension à l'aide d'un agitateur; l'alcaloïde est transformé en chlorhydrate; on évapore à sec au bain-marie dans la même capsule pour chasser l'excès d'acide chlorhydrique. Le nouveau résidu est divisé dans 2 cm³ d'eau distillée en se servant d'une baguette de verre, le liquide est passé sur un tampon de coton disposé dans la douille d'un entonnoir placé au-dessus d'un tube de centrifugeur de 10 cm³. La capsule est soigneusement lavée avec 2 cm³ d'eau distillée que l'on filtre également sur tampon de coton. Lorsque tout le liquide est passé, ce tampon est pressé avec un agitateur, de façon à éviter les pertes. Cette opération élimine déjà une quantité importante d'impuretés entraînées par le chloroforme et insolubles dans l'eau, notamment l'huile ajoutée.

Le liquide est alors additionné de 0 cm³ 1 de réactif iodo-mercurique d'emblée, on agite. Lorsque le précipité s'est déposé, on ajoute à nouveau du réactif goutte à goutte et on continue ainsi jusqu'à cessation de précipitation. Des matières colorantes existant encore en petite quantité, sont précipitées aussi, mais ce n'est pas là un inconvénient, les moindres traces d'alcaloïdes sont ainsi entraînées. Ces impuretés jouent le même rôle que la goutte de solution albumineuse que nous avons conseillé d'employer. On laisse reposer douze heures et on continue comme nous l'avons indiqué précédemment.

Remarque. — Lorsque le liquide est trop acide, par suite

de l'élimination imparfaite de l'acide chlorhydrique, les quantités de réactif iodo-mercurique nécessaires sont quelquefois assez grandes, même lorsqu'il y a peu de strychnine.

Les chiffres du tableau n° 17 montrent que cette méthode donne de bons résultats. Des urines normales ont été additionnées de quantités connues de strychnine. Dans quelques cas, nous avons ajouté de la solution acéto-albumineuse pour voir si la recherche de la strychnine ne serait pas rendue plus difficile par la présence d'albumine. Les dosages ont été faits par la méthode colorimétrique en utilisant la réaction hydro-strychnique.

Applications. — Bakunin et Majone (60) ont prétendu que certaines urines exemptes de strychnine donnent la réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium. Nous avons fait plusieurs recherches par la méthode précédente sur des urines normales et pathologiques et nous n'avons jamais obtenu de réaction positive. Une de ces urines contenait de l'adrénaline qui ne gêne pas lorsqu'on opère suivant la technique décrite.

Nous n'avons pas non plus trouvé d'urines fraîches ou putréfiées provenant de sujets sains ou malades et présentant normalement la réaction hydrostrychnique.

TABLEAU N° 17

Numéros	Strychnine ajoutée en mg.	Volume d'urine en cm ³	Volume de solution acéto- albumineuse en cm ³	Strychnine extraite en mg.	Taux d'extraction p. 100
1	5	130		4,600	92
2	4	120		3,720	93
3	3	200		2,640	88
4	2	150		1,600	80
5	1	125		0,790	79
6	0,9	130		0,756	84
7	0,8	125		0,624	78
8	0,7	125		0,567	81
9	0,6	125		0,498	83
10	0,5	125	10	0,425	85
11	0,4	125	5	0,352	88
12	0,3	125	5	0,228	76
13	0,2	125		0,144	72
14	0,1	125		0,062	62
15	0,01	100		0,004	40

CHAPITRE SIXIEME.

I. ABSORPTION ET ELIMINATION DE LA STRYCHNINE.

1° Absorption de la strychnine.

L'absorption des sels solubles de strychnine est rapide, les effets du toxique apparaissent plus ou moins vite suivant la voie d'administration ; les différentes muqueuses l'absorbent : la muqueuse buccale, le rectum, les voies respiratoires plus rapidement que la muqueuse de la bouche. C'est en l'injectant dans une veine ou sous la peau que son action se manifeste le plus tôt. Gallard (40) dit que l'application de la strychnine sur le derme dénudé par un vésicatoire, peut produire des accidents. Schuler (40) a mentionné un cas d'empoisonnement à la suite de l'instillation d'un collyre à la strychnine, chez un sujet atteint d'amaurose et les toxicologues ont fait entrevoir à ce moment-là, la possibilité de supprimer la vie chez un homme endormi, en déposant une dose mortelle de strychnine sur l'œil. Joanin (57) prétend que la strychnine n'est pas absorbée par la peau saine. Voici pourtant une observation due au docteur Lamare-Picquot, rapportée par Gallard et montrant nettement un commencement d'intoxication survenu à la suite d'absorption de strychnine par la peau. Le docteur Lamare-Picquot ne fait allusion à aucune maladie cutanée.

« En l'année 1849, passant devant l'habitation de M. Nivière, pharmacien distingué de notre ville, on me dit que, à la suite d'une préparation, ce pharmacien avait été obligé de se jeter hâtivement sur un lit. M. Nivière me raconta qu'il avait malaxé longuement une pâte grasse dans laquelle entraient une certaine dose de strychnine et que, peu après, il

avait été soudainement atteint d'un tremblement général, de rigidité dans les membres inférieurs alternant avec des secousses dans les tendons. Le pouls était misérable, la face pâle, l'intelligence nette... » (40). Le docteur Lamare-Picquot avait lu les annales de thérapeutique et de toxicologie de Rognetta et il fit usage de l'alcool, antidote de la strychnine vanté par la médecine italienne. Il ordonna un julep avec 30 grammes d'alcool, les accidents furent bientôt calmés et le malade ayant reçu pour tâche de boire une bouteille de bon Bourgogne, pour le reste de la journée, fut rendu à ses occupations le lendemain.

Recherches personnelles démontrant l'absorption de la strychnine par la peau.

Nous avons montré que la strychnine est facilement absorbée par la peau de la façon suivante : on versait 2 cm³ de solution au millième de strychnine sur les mains de plusieurs sujets, ils les frottaient l'une contre l'autre pour bien répartir la solution sur toute la surface et ils laissaient sécher. On faisait l'expérience le soir et on recueillait les urines de la nuit et l'émission du lever. Les essais ont été faits sur des sujets sains dans tous les cas; on a recherché la strychnine dans l'urine, selon la technique déjà décrite, la réaction de Denigès a été positive dans tous les cas.

Sujets	Volumes d'urine	Strychnine retrouvée en mg.
M	350	0,008
E	390	0,006
C	360	0,005

2° Elimination de la strychnine par l'urine.

Tous les auteurs qui ont étudié cette question sont d'accord pour admettre le passage d'une partie de la strychnine dans l'urine. Cette élimination commencerait au bout d'une heure d'après Kratter et durerait quarante-huit heures; pour Cushny (17) elle se prolongerait pendant trois à huit jours;

il fait remarquer de plus que 10 à 20 p. 100 de l'alcaloïde se retrouve dans l'urine et le reste est oxydé dans le foie. Masing et Dragendorff (28) conseillent de ne pas prolonger l'action de la strychnine comme médicament, car elle s'accumule. Pour Plugge (89) on rencontre à la fois de la strychnine en nature et de l'acide strychnique dans l'urine. Dragendorff rapporte que Rautenfeld (93) administra de la strychnine à plusieurs sujets à dose médicinale pendant longtemps et dans l'un des cas, une heure après l'administration de 2 mg. de nitrate de strychnine, l'urine fournissait les réactions chimiques de cet alcaloïde. L'urine de deux malades ayant reçu une dose unique de 3 mg. de nitrate de strychnine, demeura si riche en alcaloïde, pendant les soixante premières heures, que l'urine éliminée pendant les dernières heures produisait encore le tétanos chez la Grenouille. Chez un sujet ayant pris 6 mg. de nitrate de strychnine en trois jours, on put caractériser la strychnine dans les urines trente-six heures après la dernière administration.

Recherches personnelles.

Nous avons recherché la strychnine dans l'urine de malades auxquels on administrait de faibles quantités de cet alcaloïde par la voie buccale.

Mme M. M..., 56 ans.

Cette malade a pris le 29 janvier le mélange suivant :

Sulfate de strychnine : 2 mg. (soit 1 mg. 56 de strychnine)

Vin de Malaga : 20 g.

Sirop d'écorces d'oranges amères : 20 g.

Elle a reçu le même mélange le 30 et ses urines ont été recueillies; leur volume était de 950 cm³. Nous avons opéré sur la totalité, le résidu purifié a été dissous dans 2 cm³ d'acide chlorhydrique au demi et a présenté une teinte rose identique à celle fournie par un étalon à 0 mg. 350 p. 100. de strychnine. L'urine contenait donc 0 mg. 007 de strychnine base, dose

qui aurait été suffisante pour faire une expérience physiologique sur la Grenouille.

M. A..., 15 ans.

Ce malade a bu le mélange suivant le 1^{er} et le 2 février :

Sulfate de strychnine : 2 mg. (soit 1 mg. 56 de strychnine)

Glycérophosphate de calcium : 1 g.

Glycérophosphate de sodium : 0 g. 50.

Vin de Malaga : 30 g.

Sirop d'écorce d'oranges amères : 20 g.

Les urines du 2 et du 3 ont été recueillies et on y a dosé la strychnine.

Dates	Volumes d'urine en cm ³	Strychnine retrouvée dans l'ensemble des urines en mg.
2	1000	0,008
3	920	0,010

Il est donc possible de retrouver la strychnine dans l'urine de sujets qui en ont absorbé à faibles doses, mais les quantités retrouvées sont cependant minimes. On remarquera que les quantités d'alcaloïde retrouvées dans l'urine après ingestion, sont sensiblement du même ordre de grandeur que celles qu'on a mises en évidence dans les expériences précédentes, après simple absorption par la peau.

3^o Strychnine et barbituriques.

La strychnine est employée actuellement à haute dose dans le traitement du barbiturisme aigu. Nous avons recherché et dosé cet alcaloïde dans l'urine d'intoxiqués soumis à ce traitement.

Technique.

Les barbituriques résistent bien à l'action de la chaleur et Kohn Abrest, Fabre, S. Lobo (71) recommandent même la sublimation pour les purifier. Aussi, l'urine acidifiée par de l'acide tartrique a été réduite au tiers par distillation, comme

dans une recherche simple de strychnine dans l'urine. Le liquide refroidi était additionné de trois fois son volume d'éther, on agitait et laissait douze heures en contact. Le tout était alors placé dans une ampoule à décantation, on recueillait l'éther et le liquide aqueux était alcalinisé par l'ammoniaque et épuisé par le chloroforme selon le procédé déjà décrit.

Purification du barbiturique (31).

Le résidu de l'évaporation de l'éther était dissous dans de l'eau distillée chaude et on ajoutait une pincée de noir animal; on plaçait le tout au bain-marie pendant dix minutes, on filtrait sur papier; le filtrat était soumis à une purification identique. Le liquide purifié était acidifié par l'acide chlorhydrique et épuisé par agitation avec trois fois son volume d'éther pendant vingt minutes. L'éther était abandonné à l'évaporation dans une capsule de verre tarée, on obtenait un résidu bien blanc et cristallin. Il était pesé après séjour à l'exsiccateur et on identifiait ensuite le barbiturique par les micro-réactions indiquées par Denigès (25). Ce n'était là le plus souvent qu'une recherche complémentaire, car on était renseigné en général sur la nature du barbiturique par l'entourage des malades.

Observation I (guérison) (7)

« M. X..., 42 ans, est arrivé à l'hôpital Saint-André, le 13 mars, à 10 heures du matin. Il a ingéré, dans l'intention de se suicider, le contenu de 4 tubes de gardénal (soit 80 comprimés à 10 centigrammes) une demi-heure avant son entrée... On fait à l'arrivée à l'hôpital, une injection d'apomorphine et on donne un gramme d'ipéca *per os*. On n'arrive pas à faire avaler le tube de Faucher au malade qui se défend. Quelques minutes après, vomissements peu abondants, dans lesquels on reconnaît quelques débris de comprimés.

Progressivement, le malade tombe dans une torpeur qui va en s'accroissant. Une demi-heure après, il est endormi...

10 h. 45 : on décide de commencer la strychnine et on injecte 1 cm³ d'une solution au centième de sulfate de strychnine...

11 h. 15 : 1 centigramme de sulfate de strychnine intra-veineux... »

Le 13 mars, le malade a reçu 2 centigrammes de sulfate de strychnine par voie intra-veineuse et 1 centigramme par voie sous-cutanée.

Le 14 mars : 7 centigrammes par la voie sous-cutanée.

Le 15 mars : 9 centigrammes — —

Le 16 mars : 1 centigramme — —

La dose totale représente donc 20 centigrammes.

Nous n'avons pas été averti à temps de la présence de ce malade à l'hôpital et nous n'avons pu commencer à rechercher la strychnine et le gardénal dans ses urines qu'à partir du 19 mars.

Le tableau suivant, où sont résumés les résultats obtenus, montre que l'élimination du gardénal et de la strychnine est lente.

TABLEAU N° 18.

Urines du	Volume remis au laboratoire	Volume sur lequel on a opéré	Gardénal par litre en mg.	Strychnine par litre en mg.
19 mars	750	100	149	0,020
22 —	800	100	127	0,020
23 —	760	200	135	0,015
25 —	780	200	65	0,0375
27 —	750	200	50	0,0150
29 —	740	200	45	0,0120

Observation II (7)

*Intoxication mortelle par le gardénal (6 grammes environ).
Injection de 1 g. 31 de sulfate de strychnine.*

« Mme X... 40 ans, est transportée le 25 avril 1934 à l'hôpital Saint-André, à 23 heures, dans le coma complet. Elle est admise, salle 21, dans le service de M. le Dr Denis. L'interne de

garde recueille peu de renseignements de la part de la famille; toutefois il apprend que l'on a trouvé auprès du lit de la malade trois tubes vides ayant contenu des comprimés de gardénal à 10 centigrammes. On ne sait pas à quelle heure exactement le toxique a été ingéré, mais on pense que la tentative de suicide remonte à au moins vingt-quatre heures.

Nous voyons la malade une demi-heure après son entrée dans le service... Nous commençons immédiatement le traitement par la strychnine, et l'on injecte à 23 h. 30 le premier centigramme de sulfate de strychnine intraveineux. En deux heures, on injecte 16 centigrammes de sulfate de strychnine par la voie intraveineuse, d'abord de cinq en cinq minutes, puis de quart d'heure en quart d'heure. La strychnine a été continuée pendant toute la nuit. Elle reçoit 1 centigramme à 2 heures, 3 heures, 4 h. 30, 6 h. 30, 8 heures. »

Le 26 la malade a reçu de 9 heures du matin à 9 heures le lendemain, 31 centigrammes de sulfate de strychnine;

Le 27 de 9 heures à 23 heures, 79 centigrammes de sulfate de strychnine.

La mort a eu lieu le 28 à 10 heures.

Les quantités de strychnine retrouvées dans l'urine le 26 et le 27 sont considérables.

TABLEAU N° 19.

Urines du	Volume en cm ³	Volume sur lequel on a opéré	Gardénal par litre en mg.	Strychnine par litre en mg.	Gardénal éliminé en mg.	Strychnine éliminée en mg.
25 avril	585	100	606	0,300	354	0,175
26 —	800	100	812	48,40	649	38,72
27 —	425	100	512	42,85	217	18,21

Observation n° III (guérison).

B. Paulette, 38 ans, intoxication par le gardénal à la suite de l'ingestion d'un tube de 20 comprimés à 0 g. 10. Coma à l'admission à l'hôpital le 11 juin; le coma a été complet de 18 heures à 9 heures le lendemain matin.

Traitement : à l'entrée, injection intra-veineuse de 1 cm³ d'une solution à 1 p. 100 de sulfate de strychnine ; 6 injections sous-cutanées de 1 cm³. La malade a donc reçu en tout 7 centigrammes de sulfate de strychnine.

Nous avons recherché et dosé la strychnine et le gardénal dans l'urine du 12 juin :

TABLEAU N° 19bis.

Volume en cm ³	Volume sur lequel on a opéré	Gardénal par litre en mg.	Strychnine par litre en mg.	Gardénal éliminé en mg.	Strychnine éliminée en mg.
610.	100	360	0,350	252	0,213

Observation n° IV (mort)

Mlle X., 24 ans, est entrée le 27 septembre à 14 heures à l'hôpital St-André. Elle était dans le coma complet et toute cyanosée. On a commencé la strychnine à son arrivée : 1 cg. puis un nouveau centigramme à 15 heures, de 15 heures à 22 heures, elle a reçu 5 cg.; de 22 heures à 4 heures, 11 cg. de demi-heure en demi-heure. Le lendemain 18, on lui a encore administré 9 cg. dans la journée, puis 3 cg. à 20 h. 10. La mort s'est produite à 20 h. 30.

La quantité totale de strychnine injectée représente 29 centigrammes de sulfate de strychnine.

Nous avons recherché le barbiturique et la strychnine dans les urines recueillies. Le barbiturique était du gardénal à la dose énorme de 3 g. 600 par litre.

TABLEAU N° 19ter.

Volume en cm ³	Volume sur lequel on a opéré	Gardénal par litre en g.	Strychnine par litre en mg.	Strychnine éliminée en mg.
520	200	3,600	0,695	0,361

La quantité de gardénal éliminée était de 1 g. 872.

Nous avons examiné le foie, l'estomac et la rate, les résultats sont exposés au tableau n° 32.

Observation n° V (guérison)

Cette malade a absorbé une quantité inconnue de gardénal, on ne lui a fait qu'une injection sous-cutanée de 1 centigramme de sulfate de strychnine; nous avons suivi l'élimination à partir du moment où l'injection a été faite jusqu'à son départ de l'hôpital.

Les résultats obtenus figurent au tableau suivant:

Tableau n° 20

Urines du	Volume en cm ³	Volume sur lequel on a opéré	Gardénal par litre en mg.	Strychnine par litre en mg.	Gardénal éliminé en mg.	Strychnine éliminée en mg.
12 sept.	800	200	320	0,015	256	0,012
13 —	1.050	200	306	0,010	321	0,0105
14 —	600 ¹	200	236	0,008	»	»
19 —	1.250	200	216	0,006	270	0,0075
20 —	1.300	200	88	0,002	114	0,0026

1. Le malade a uriné dans son lit, c'est ce qui explique ce volume faible.

Observation n° VI (guérison)

M. X. n'a reçu qu'un centigramme de sulfate de strychnine, en injection sous-cutanée. Nous avons suivi l'élimination du gardénal et de la strychnine depuis l'admission jusqu'au départ. Le malade est entré à l'hôpital l'après-midi, c'est ce qui explique le faible volume d'urine du premier jour.

TABLEAU N° 21.

Urines du	Volume en cm ³	Volume sur lequel on a opéré	Gardénal par litre en mg.	Strychnine par litre en mg.	Gardénal éliminé en mg.	Strychnine éliminée en mg.
22 sept.	650	200	300	0,020	195	0,013
23 —	1.250	200	210	0,015	262	0,0187
24 —	1.500	200	160	0,010	240	0,015

De ce qui précède, on peut conclure que les quantités de strychnine retrouvées dans l'urine, chez les intoxiqués par les

barbituriques traités par cet alcaloïde, sont très faibles en égard aux doses injectées; l'élimination est lente. Chez l'intoxiqué n° 1, on a encore trouvé de la strychnine dans son urine treize jours après la dernière injection.

4° **Elimination de la strychnine par l'urine chez le lapin.**

D'après Joanin (57), l'étude de l'élimination de la strychnine chez les animaux n'a fourni que des résultats contradictoires. Pancier (86 *ter*) n'a signalé que des traces de strychnine dans l'urine des lapins qui en recevaient des doses assez fortes pourtant. Bakunin et Majone (5) qui ont également expérimenté chez le lapin ont obtenu en général des résultats analytiques négatifs en opérant sur l'urine.

Recherches personnelles.

Nous avons injecté des quantités progressivement croissantes de strychnine à des lapins et malgré cette précaution, ils ont succombé rapidement à des doses peu élevées.

Les injections étaient faites sous la peau du dos; nous nous sommes servi d'une solution de sulfate de strychnine dont 1 cm³ contenait 0 mg. 2 de strychnine base, le véhicule était du sérum physiologique à 8 p. 1000. Lorsque les doses à injecter étaient égales ou supérieures à 1 mg. de strychnine base, nous avons employé une solution d'un titre cinq fois plus élevé en strychnine que la précédente.

Les lapins étaient placés dans des cages dont le fond, constitué de deux treillages, l'un très fin, était inclus dans la partie supérieure d'un entonnoir en zinc reposant sur un support métallique, un bocal placé au-dessous de l'entonnoir recevait l'urine.

Lapin n° 1. — mâle 1 kg. 800.

A aucun moment, il n'a présenté d'accidents; le 26 mai il a succombé après une crise violente ayant duré à peine une minute.

Le tableau 23 résume les résultats obtenus en recherchant la strychnine dans l'urine.

Nous avons suivi la même technique que dans le cas de l'urine humaine. Il faut chauffer doucement pendant la distillation, le liquide ayant tendance à mousser malgré l'addition d'une goutte d'huile. Les résidus sont plus difficiles à purifier que dans le cas de l'urine humaine.

Tableau n° 22.

Dates des injections	Strychnine injectée en mg.	Volumes des urines	Strychnine éliminée en mg.	Observations
16 mai ..	0,2			
17 — ...	0,2	190	0,015	Recherche
18 — ...	0,3	110		et dosage
19 — ...	0,40	105	0,0020	sur l'urine
20 — ...	0			entière.
21 — ...	0			
22 — ...	0,46	380	0,0038	recherche
23 — ...	0,60	190	0,0020	et dosage
24 — ...	0,80	250	0,0040	sur la moi-
25 — ...	0,80	150	0,0030	tié de l'uri-
26 — ...	1	150	0,0050	ne.
	4,76		0,0348	

Les quantités de strychnine retrouvées dans l'urine du lapin sont faibles, mais grâce à la sensibilité de la réaction hydrostrychnique, on peut facilement les mettre en évidence et les doser. Nous avons recherché la strychnine dans les organes de ce lapin, (voir tableau 33).

Lapin n° 2. — Mâle 2 kg. 500

Il a reçu également des quantités croissantes de strychnine ; à la suite d'une de ces injections, il a présenté des crises violentes et il est demeuré paralysé du train arrière. On a cessé le traitement à ce moment ; le 6 juin on l'a sacrifié en lui injectant 2 mg. 50 de strychnine sous la peau.

Tableau n° 23

Dates des injections	Strychnine injectée en mg.	Volumes des urines en cm ³	Strychnine éliminée en mg.	Observations
17 mai	0,2			
18 —	0,35	210	0,0010	Recherche et dosage sur la
19 —	0,4	250	0,0010	totalité de l'urine.
20 —	0			
21 —	0			
22 —	0,40	600	0,0025	Recherche et
23 —	0,60	380	0,0015	dosage sur la
24 —	0,80	310	0,0018	moitié de l'u-
25 —	1,20	200	0,0016	rine.
26 —	1,40	260	0,004 a	
	5,35		0,0134	
6 juin	2,50			10 minutes
	7,85			après l'in-
				jection, cri-
				se de 2 mi-
				nutes et
				mort.

Les résultats concernant les organes de ce lapin sont exposés au tableau 34.

Lapin n° 3. — Mâle 2 kg. 200

Ce lapin a été traité à la fois par de la strychnine et de la brucine. Les deux injections ont été faites à 5 minutes d'intervalle, en commençant par la brucine. On a utilisé la réaction de François et la réaction de Denigès sur la même prise d'essai, pour caractériser ces alcaloïdes. Malgré l'importance des doses de brucine, la réaction de François (36) n'a pas permis de déceler cet alcaloïde plusieurs jours après l'injection.

Tableau n° 24.

Dates des injections	Strychnine injectée en mg.	Brucine injectée en mg.	Volume des urines en cm ³	Strychnine éliminée en mg.	Réaction de François pour la brucine	Observations
20 juin	0	3				
21 —	0,8	3	46		+	
22 —	0	0	110	0,004	—	25 minutes après l'injection, crise violente
23 —	0	0		0,001		
24 —	0	0		0		
25 —	0	0	330	0	—	
26 —	0,5	0,5	170	0	—	
27 —	0	3	150	0,002	+	
28 —	0	0	130	0	+	
	1,3			0,007		11 minutes après la dernière injection, crise de 3 minutes et mort.
12 juil.	2,5	4				
	3,8	13,5				

Lapin n° 4. — Mâle de 2 kg. 520

La réaction de François, nous a permis de déceler la brucine dans l'urine, le lendemain d'une injection assez importante en

Tableau n° 25.

Dates des injections	Strychnine injectée en mg.	Brucine injectée en mg.	Volume des urines en cm ³	Strychnine éliminée en mg.	Réaction de François pour la brucine	Observations
20 juin	0	3				
21 —	1	4,5	110		+	
22 —	0	0	120	0,010	+	Crise violente
23 —	0	0	110	0,002	—	20 minutes après l'injection
24 —	0	0	310			
25 —	0	0		0	—	
26 —	0,3	0,5	90	0	—	
27 —	0	3	150	0,006	—	
28 —	0	0	120	0	+	
3 juil.	0	3		0	—	
4 —	0	2,5	145	0	+	
5 —	0	3		0	+	
6 —	1	0	320	0	—	
7 —	1	0		0,018	—	
11 —	3	4				
	6,3	23,5				

général. Les jours suivants elle était négative. Ceci donne à penser que l'élimination de cet alcaloïde est rapide, Lauder Brunton (96) attribue sa toxicité beaucoup plus faible que celle de la strychnine à son évacuation rapide.

Le lapin n° 4 a été sacrifié le 11 juillet, par injection à cinq minutes d'intervalle, de 2,5 milligrammes de strychnine et de 4 milligrammes de brucine. Il a présenté une crise 10 minutes après l'injection; il s'est remis en un quart d'heure, mais 20 minutes plus tard, il en a eu une seconde à laquelle il a succombé. Nous avons également recherché la strychnine et la brucine dans ses organes (voir tableau 36).

Les quantités de strychnine retrouvées dans l'urine des lapins recevant des injections de sulfate de strychnine sont faibles, comme dans le cas de l'homme. L'urine présente une réaction positive le lendemain, et le surlendemain de l'injection en général; puis elle devient négative. Lorsque les lapins avaient reçu de la brucine en même temps, on en retrouvait dans l'urine le lendemain dans la plupart des cas et pas le surlendemain.

II. VALEUR COMPAREE DE LA METHODE DE STAS-OTTO MODIFIEE PAR OGIER ET KOHN ABREST ET DE CELLES DE FLORENCE ET DE HUSEMANN.

Depuis l'apparition de la méthode de Florence, quelques auteurs ont effectué des expériences pour la comparer à celle de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest.

Schoofs (98) a obtenu des résultats, qui, à première vue, semblent excellents, en recherchant la strychnine dans le sang et dans le lait par la méthode de Florence :

Cas du sang

	<i>Essai A</i>	<i>Essai B</i>	<i>Essai C</i>
Sang d'abattoir.....	50 gr.	50 g.	50 g.
Strychnine base intro- duite	0,00195 g.	0,0039 g.	0,0078 g.
Strychnine base retrou- vée	0,0017 g.	0,003 g.	0,0071 g.

Les taux d'extraction de l'alcaloïde sont donc de 97 p. 100; 76 p. 100; 91 p. 100, respectivement pour les expériences A, B, C. Il ne conseille pas cette méthode dans le cas du lait, elle est trop longue à cause des émulsions qui se forment, les résultats qu'il a obtenus ont pourtant été de 91 p. 100 dans un cas et 94 p. 100 dans l'autre. On peut faire à l'auteur le reproche d'avoir utilisé la pesée des résidus comme moyen de dosage de la strychnine. Par exemple, dans un essai fait sur le cobaye et que nous rapportons plus loin¹, il obtient un résidu de 1 mg. 5 dans le cas du cerveau et il note que la réaction avec l'acide sulfurique et le dichromate de potassium est douteuse; or,

1. Voir page 155.

on sait que ce réactif permet de déceler 0 mg. 001 d'alcaloïde. Ce résidu qui a été compté pour 1 mg. 3 de strychnine était donc bien impur.

Plus tard Schoofs (99) a reconnu que la technique de Florence ne pouvait pas être généralisée : l'acide trichloracétique précipite l'aconitine, la papavérine, la vératrine, la narcotine, la delphinine, etc.

Joanid (56) s'est servi comparativement des procédés de Stas-Otto modifié et de Florence. Avec 100 g. de viande fraîche contenant 50 milligrammes de strychnine, il obtient un taux d'extraction de 7 p. 100 par la méthode de Florence et 94 p. 100 par la méthode de Stas-Otto.

Avec des viscères putréfiés contenant de la strychnine dans la même proportion que ci-dessus, il obtient :

72 p. 100 de l'alcaloïde ajouté par la méthode de Stas-Otto, et 10 p. 100 par la méthode de Florence.

Le dosage qu'il a employé et que nous avons cité précédemment est entaché d'erreur par excès (voir page 53).

S. Lobo (71), a ajouté 30 milligrammes de sulfate de strychnine à 100 grammes de foie de bœuf et dosant l'alcaloïde par la réaction hydrostrychnique, après extraction par la méthode de Stas-Otto modifiée, il a retrouvé 10 milligrammes de strychnine base correspondant à 12 milligrammes 81 de sulfate de strychnine et non à 25,6 comme il l'écrit. Le taux d'extraction a été alors de 42,60 p. 100. Il a fait une autre expérience en additionnant du foie de bœuf putréfié de strychnine : le taux d'extraction a été de 35,8 p. 100 dans ce cas et non 71,2 (voir également page 155).

En résumé, les auteurs précédents ont employé des procédés de dosage différents et de valeurs très inégales, c'est ce qui explique la divergence de leurs conclusions.

Travaux personnels.

Nous avons comparé les résultats donnés par la méthode de Stas-Otto modifiée, par celle de Husemann (53) qui débute par l'épuisement des matières en milieu aqueux et acide et par celle de Florence (53).

Nous nous sommes servi dans ce but du muscle du cou de bœuf que l'on divisait en s'aidant de ciseaux; en plaçant le tout dans un verre à pied ensuite, on achevait de pulper par un mouvement de va-et-vient des ciseaux. La division ainsi obtenue est plus complète qu'au hache-viande. La pulpe était répartie dans des bocaux de verre, bouchant à l'émeri et on ajoutait 30 cm³ d'eau distillée contenant des quantités de strychnine et de brucine déterminées en mesurant des volumes connus de solutions titrées. On agitait vivement pour rendre le contact intime et faciliter l'adsorption, le contact était prolongé pendant 3 heures, puis on appliquait les diverses méthodes d'extraction et les résidus étaient purifiés par la technique que nous avons préconisée.

Méthode de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest (85).

Les différents bocaux ont reçu un poids d'alcool à 90° cinq fois supérieur à celui de la chair et la réaction a été rendue nettement acide par l'addition d'une solution alcoolique d'acide tartrique. On a agité et laissé 12 heures en contact à la température du laboratoire. On a passé sur une compresse au bout de ce temps, le résidu a été épuisé à fond dans une presse à main; les différents liquides ont été réunis, filtrés sur papier, puis évaporés au bain-marie à pression réduite. On a repris par de l'eau distillée et la solution obtenue a été purifiée par agitation avec l'éther de pétrole. Après décantation, les dernières traces d'éther de pétrole restant dans le liquide aqueux ont été chassées au bain-marie et ce dernier a été agité avec 80 cm³ de chloroforme dans une ampoule à décantation, après avoir été rendu alcalin par une solution d'hydroxyde de sodium diluée au dixième. *Comme nous l'avons déjà indiqué (page 62) on a intérêt à substituer l'hydroxyde de sodium à l'ammoniaque dans le cas de la brucine.*

Le chloroforme a été recueilli et on a pratiqué un second épuisement de la solution aqueuse avec 20 cm³ de chloroforme pendant 10 minutes. Quelquefois une partie du liquide restait émulsionné; on le recevait alors sur un filtre sec, on recouvrait d'un verre de montre et le filtrat était placé dans une ampoule à décantation; on recueillait le chloroforme.

L'ensemble du chloroforme a été évaporé au bain-marie, le résidu a été purifié selon la technique que nous avons recommandée, en reprenant d'abord par 5 cm³ d'eau distillée et une goutte d'acide chlorhydrique comme dans le cas de l'urine.

Dosage de la strychnine

Exemple : Dans l'expérience n° 1 le résidu de la purification a été dissous dans 5 cm³ d'acide chlorhydrique dilué au centième. 1 cm³ de cette solution a été étendu à 5 cm³ avec de l'eau distillée.

2 cm³ de ce dernier liquide ont été additionnés de 2 cm³ d'acide chlorhydrique pur et de 2 g. d'aiguilles de zinc pur, on a porté à l'ébullition; après un abandon de 3 à 4 minutes, le liquide a été refroidi, décanté dans un autre tube à essai et additionné d'une goutte de la solution à 1 p. 10.000 de nitrite de sodium. La même opération a été faite simultanément à partir de 2 cm³ d'une solution étalon de strychnine à 0 g. 4 p. 100. Les deux colorations ont été comparées au colorimètre.

Strychnine extraite : $0,4 \times \frac{11}{20} \times \frac{25}{100} = 0 \text{ mg. } 055.$

On a opéré de même dans l'expérience n° 2.

Dans tous les autres cas, le résidu a été dissous dans 3cm³ d'acide chlorhydrique au centième (solution A); comme il contenait à la fois de la strychnine et de la brucine et que nous voulions pratiquer la réaction de François, qui s'était montrée peu sensible dans des expériences préalables, nous avons intérêt à avoir une solution assez concentrée.

Elle a été convenablement diluée ensuite pour le dosage de la strychnine.

Dosage de la brucine.

Par la réaction de Francois (37).

Dans tous les cas, on a essayé de doser la brucine par la réaction de François sur 0 cm³ 5 de la solution obtenue en traitant le résidu par 3 cm³ d'acide chlorhydrique dilué à 1p. 100. En général, la réaction a été positive, mais en la com-

parant à une gamme étalon, on obtenait dans beaucoup d'expériences un taux d'extraction très faible, notablement inférieur à celui de la strychnine. Pourtant ce que l'on sait des propriétés de ces alcaloïdes : leur solubilité dans le chloroforme, la solubilité de leurs tartrates dans l'alcool permettait de prévoir des chiffres voisins.

Par la réaction à l'acide nitrique,

En pratiquant la réaction à l'acide nitrique telle que nous l'avons conseillée pour le dosage de la brucine, les résultats obtenus semblent plus logiques, aussi nous avons généralisé l'emploi de cette méthode.

En partant de 0 cm³ 5 de la solution A et de 0 cm³ 3 d'acide nitrique, et en comparant la teinte obtenue à la gamme (page 72) le résultat a été le suivant dans l'expérience n° 4 :

$$0,04 \times \frac{8}{7} = 0,045 \text{ mg. de brucine dans } 0 \text{ cm}^3 \text{ } 5, \text{ et}$$

$$0,045 \times \frac{3}{0,5} = 0 \text{ mg } 27 \text{ pour } 3 \text{ cm}^3,$$

correspondant à un taux d'extraction de 54 p. 100.

Nous avons résumé nos expériences dans le tableau suivant :

Tableau n° 26.

Numéros des expériences	Poids de muscle de bœuf en g.	Strychnine ajoutée en mg.	Brucine ajoutée en mg.	Strychnine retrouvée en mg.	Brucine retrouvée en mg.	Taux d'extraction de la strychnine	Taux d'extraction de la brucine
1	60	0,1	0	0,055		55	
2	100	0,3	0	0,124		41	
3	100	0,4	0,4	0,22	0,20	55	50
4	100	0,5	0,5	0,25	0,27	50	52
5	100	0,6	0,6	0,26	0,28	43	46
6	100	0,7	0,7	0,37	0,35	54	50
7	100	0,8	0,8	0,44	0,42	55	54
8	100	0,9	0,9	0,43	0,48	47	53
9	100	1	1	0,42	0,49	42	49
10	100	1,2	1,2	0,54	0,48	45	40
11	100	1,5	1,5	0,54	0,60	38	40
12	100	1,6	1,6	0,60	0,68	37	42
13	100	1,7	1,7	0,68	0,72	40	42
14	100	1,8	1,8	0,79	0,90	43	50
15	100	2	2	1,14	1,22	57	61

Méthode de Florence (33).

Nous avons suivi exactement la technique indiquée par Florence et le résidu a été purifié comme plus haut. Les alcaloïdes ont été dosés de la façon déjà décrite.

Dans les expériences que nous avons réalisées, le volume du filtrat trichloracétique était dans chaque cas voisin de 150 cm³. Afin d'obtenir un épuisement aussi parfait que possible, tout en n'employant pas trop de chloroforme, le liquide a été légèrement alcalinisé par une solution au dixième de lessive d'hydroxyde de sodium et on l'a agité par fractions de 20 cm³ environ avec 100 cm³ de chloroforme pendant dix minutes dans une ampoule à décantation. Au bout de ce temps, on décantait le chloroforme et rejetait le liquide épuisé, le chloroforme recueilli était de nouveau agité avec 20 cm³ de filtrat trichloracétique rendu alcalin. Les chiffres suivants montrent que la méthode de Florence conduit à des résultats plus faibles que celle de Stas-Otto.

Tableau n° 27

Poids de muscle de bœuf en g.	Numéro de l'expérience	Strychnine ajoutée en mg.	Brucine ajoutée en mg.	Strychnine retrouvée en mg.	Brucine retrouvée en mg.	Taux d'extraction strychnine p. 100	Taux d'extraction de la brucine p. 100
100	1	0,1	0	0,010		10	
100	2	0,3	0	0,057		19	
100	3	0,4	0,4	0,096	0,10	24	25
100	4	0,5	0,5	0,082	0,14	16	28
100	5	0,6	0,6	0,099	0,12	16	20
100	6	0,7	0,7	0,103	0,13	14	18
100	7	0,8	0,8	0,106	0,17	13	21
100	8	0,9	0,9	0,18	0,21	20	23
100	9	1	1	0,17	0,22	17	22
100	10	2	2	0,42	0,49	21	44

Méthode de Husemann (53).

Nous l'avons appliquée en lui faisant subir quelques modifications : les différents bocaux ont reçu 500 cm³ d'eau distillée

et 5 cm³ d'acide chlorhydrique pur; dans l'alcool la chair se réunit rapidement à la partie inférieure, elle reste en suspension au contraire dans l'eau. Après douze heures de contact, nous avons passé sur une compresse et enlevé les dernières traces de liquide au résidu en comprimant dans une presse à main. Sans être filtré, le liquide recueilli était évaporé à consistance sirupeuse au bain-marie. Il a été repris peu à peu par 300 cm³ d'alcool à 90°; la solution alcoolique a été filtrée sur papier.

Nous avons continué ensuite comme dans la méthode de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau n° 28

Numéros des expériences	Poids de muscle de bœuf en g.	Strychnine ajoutée en mg.	Brucine ajoutée en mg.	Strychnine retrouvée en mg.	Brucine retrouvée en mg.	Taux d'extraction de la strychnine	Taux d'extraction de la brucine
1	100	0,1	0	0,020		20	
2	100	0,3	0	0,075		25	
3	100	0,4	0,4	0,13	0,12	32	30
4	100	0,5	0,5	0,21	0,24	42	48
5	100	0,6	0,6	0,13	0,14	21	23
6	100	0,7	0,7	0,29	0,31	41	44
7	100	0,8	0,8	0,30	0,34	37	42
8	100	0,9	0,9	0,28	0,27	31	30
9	100	1	1	0,34	0,23	34	23
10	100	1,2	1,2	0,54	0,49	45	40
11	100	1,5	1,5	0,63	0,63	42	42
12	100	2	2	1,20	1,05	60	52

Malgré toutes les critiques qu'on lui a faites, la méthode de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest est celle qui donne les meilleurs résultats. La méthode de Florence conduit à des pertes importantes et les techniques commençant par l'épuisement des matières en milieu aqueux et acide, comme celle de Husemann, ne semblent pas présenter d'avantages sur celle de Stas-Otto; les manipulations sont plus longues et les chiffres trouvés sont inférieurs.

III. RESISTANCE DE LA STRYCHNINE A LA PUTREFACTION

De l'avis de la plupart des auteurs, la résistance de la strychnine à la putréfaction est considérable. Les premiers travaux importants à ce sujet ont été entrepris au moment du procès de Palmer, inculpé d'avoir empoisonné J. Cook (109); les chimistes les plus éminents d'Angleterre furent consultés et ne se trouvèrent pas d'accord. Taylor (109) à qui avait été confiée l'expertise chimique ne réussit pas à mettre en évidence la strychnine et pourtant Cook avait présenté tous les symptômes de l'intoxication par cet alcaloïde.

Nunnley (109) a recherché la strychnine dans le corps d'animaux à différents degrés de décomposition, depuis quelques instants après la mort jusqu'au quarante troisième jours : il a fait quinze expériences de ce genre et a réussi à caractériser l'alcaloïde dans tous les cas. W. Herapath (109) a expérimenté sur des chats et recherché la strychnine dans le corps d'un renard, il a toujours pu obtenir ses réactions; dans un de ces essais, l'animal avait été inhumé pendant deux mois. Rogers (109) administra 0 g. 10 de strychnine à un chien, il enleva l'estomac et une partie du sang, trois jours après la mort. Dix jours après, le sang était putréfié et il arriva cependant à découvrir la strychnine; l'estomac fut abandonné 4 à 5 semaines à la putréfaction et on put en extraire de la strychnine en assez grande quantité. Stevenson (109) l'a retrouvée dans le corps d'un cheval mort depuis un mois et dans un canard putréfié.

Orfila (84) fit l'expérience que voici :

« Le 11 mai 1827, on mit dans un bocal à large ouverture, exposé à l'air et contenant des intestins, 30 centigrammes d'acétate de strychnine dissous dans un litre et demi d'eau. Le 8 août suivant, le mélange exhalait une odeur infecte, la

liqueur fut filtrée et évaporée jusqu'à siccité; le produit de l'évaporation traité par l'alcool et décoloré par le charbon animal, évaporé de nouveau, fournit un résidu jaunâtre qui devenait d'un très beau rouge par l'acide azotique et qui était d'une amertume insupportable analogue à celle des sels de strychnine. Il m'a donc été possible de reconnaître un sel de strychnine plusieurs mois après qu'il avait été mélangé avec des matières animales, même lorsque le mélange avait été en contact avec l'air. » Cloetta, Erdmann et Uslar. Riecker, Heintz (28) ont également caractérisé la strychnine dans des matières putréfiées : Ipsen (55) l'a retrouvée dans des cadavres inhumés pendant un an et demi et Frésenius (13) l'a mise en évidence dans un cadavre onze ans après la mort.

Vers 1879, un brasseur fut accusé en Allemagne (117) d'avoir fait disparaître sa femme par la strychnine. L'exhumation eut lieu 4 mois après la mort et l'expertise fut confiée à Büchner. Il ne put découvrir ni strychnine, ni aucun autre poison. Le brasseur fut acquitté, mais l'on fit de nombreuses recherches pour voir si la strychnine n'était pas altérée pendant la putréfaction des cadavres. Büchner, de Gorup-Bezanetz, Vislicenus, Rancke (111) expérimentèrent sur ce sujet : 17 chiens furent empoisonnés par la strychnine et exhumés 100, 130, 200 et 330 jours après leur mort. L'expérimentation physiologique permit de découvrir le poison à coup sûr.

Dié (27) a caractérisé la strychnine dans du sang et du bouillon contenant primitivement 1 p. 1000. de strychnine, après quatre ans de putréfaction. Pancier (86 *ter*) a expérimenté sur des lapins et il a découvert la strychnine avec autant de facilité, chez les sujets récemment morts que chez ceux qui avaient été abandonnés à la putréfaction.

Recherches personnelles.

Disposant d'une méthode de recherche et de dosage particulièrement sensible de la strychnine, nous avons voulu l'appliquer à l'étude de cette question. En résumé, la seule conclusion que l'on peut retirer des recherches effectuées par les auteurs précédemment cités, c'est que la strychnine résiste

suffisamment à la putréfaction pour pouvoir être décelée au bout d'un certain temps et, dans tous les cas, on peut objecter que la réaction qu'ils utilisent — acide sulfurique et dichromate de potassium, sauf dans l'expérience d'Orfila — est tellement sensible qu'il suffit de traces infimes de strychnine pour la donner. Pour avoir une idée nette à ce sujet, il fallait donc connaître la quantité de strychnine restante en la dosant.

Dans ce but, nous avons disposé du muscle de bœuf, finement haché, dans des flacons bouchant à l'émeri; nous l'avons additionné de 30 cm³ d'eau et de quantités connues de strychnine; après une agitation soigneuse pour répartir l'alcaloïde dans toute la masse, on a abandonné la chair à la putréfaction pendant huit mois (janvier-août). On pourrait nous reprocher de ne pas nous être placé dans la condition de cadavres inhumés, mais un fait important peut tout de même demeurer acquis, si la strychnine ne peut plus être mise aussi facilement en évidence, dans de la chair putréfiée en vase clos; on comprendrait alors, à plus forte raison, qu'elle puisse disparaître à la longue des cadavres inhumés.

Nous nous étions assuré au préalable qu'il n'y a pas de ptomaïne présentant la réaction hydrostrychnique : nous avons opéré sur du muscle de bœuf abandonné en vase clos pendant huit mois, sur des organes humains un mois après la mort et sur des viscères humains prélevés de deux corps inhumés pendant six mois.

Nous avons employé des doses de strychnine de 0 mg. 1 à 1 mg., chiffres qui paraissent faibles et pourtant le dernier équivaut à 10 mg. par kg., dose que l'on ne rencontre que rarement en toxicologie. Les expériences faites par les auteurs précédents portaient sur des quantités beaucoup trop fortes d'alcaloïde : Dié (27) a utilisé 1 g. de strychnine par kg. de bouillon, chiffre 100 fois supérieur à la teneur la plus forte de nos essais.

Recherche et dosage de la strychnine.

Nous avons employé la méthode de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest, pour l'extraction de l'alcaloïde; elle a été complétée par notre technique de purification.

Dans tous les cas, le résidu obtenu a été dissous dans 1 cm³ d'acide chlorhydrique dilué au dixième. On prenait 0 cm³ 50 de ce liquide pour la recherche de la strychnine; le reste a servi dans quatre cas à l'expérimentation physiologique sur la Grenouille verte : pour cela, on évaporait le liquide au bain-marie, de façon à chasser l'excès d'acide, on reprenait par 0 cm³ 5 d'eau distillée et on injectait la solution obtenue dans le sac lymphatique dorsal de la Grenouille.

Nous avons résumé les résultats dans le tableau ci-dessous :

Tableau n° 29

Numéros des expériences	Strychnine ajoutée en mg. (au mois de janvier)	Poids de muscle de bœuf en g.	Strychnine retrouvée en mg. (au mois d'août)	Taux d'extraction p. 100	Poids de la grenouille en g.	Résultat de l'expérience physiologique
1	0,1	60	0,0020	2	7,55	aucun symptôme
2	0,3	100	0,0042	1,4		
3	0,4	100	0,0078	1,9		
4	0,5	100	0,032	6,4		
5	0,6	100	0,010	1,6	8,50	aucun symptôme
6	0,7	100	0,0091	1,3		
7	0,8	100	0,013	1,6		
8	0,9	100	0,014	1,5	9,10	aucun symptôme crise, mort.
9	1	100	0,032	3,2	9	

Les expériences physiologiques résumées au tableau 29 concordent avec celles de la page 83; les grenouilles n° 2, 6 et 8 ont reçu respectivement 0 mg. 27; 0 mg. 52; 0 mg. 76 de strychnine par kg.; la grenouille n° 9 a succombé à 1 mg. 77 par kg.

La strychnine résiste bien à la putréfaction puisqu'on a pu la mettre en évidence dans de la chair en renfermant 1 milligramme par kg. après un abandon de neuf mois en vase clos, mais il n'en est pas moins vrai que le taux d'extraction est très bas dans toutes ces expériences, de 1,3 p. 100 à 6,4 p. 100 alors que dans des expériences analogues, mais en utilisant de la viande fraîche, les chiffres étaient compris entre 37 et 55 p. 100 (tableau 26). On peut expliquer ce fait de deux façons : ou bien la strychnine est entrée en combinaison tellement stable avec les protides qu'on ne peut plus en extraire qu'une minime fraction (60) ou bien l'alcaloïde a été détruit pendant la putréfaction.

IV. RECHERCHE DE LA STRYCHNINE EN TOXICOLOGIE

A. Chez l'homme.

Selon la date et les circonstances de l'intoxication, on retrouve le poison surtout dans le tube digestif et son contenu, dans le foie, les reins, la rate. Héger (47) a montré que le foie préparé pour la circulation artificielle, retient une forte proportion de strychnine, à condition de ne pas opérer avec des solutions concentrées. Roger (95) comparant l'action de la strychnine sur le glycogène du foie à l'action de l'ammoniaque sur le glucose en vase clos, pense que l'alcaloïde se combine au glycogène. On sait que le glucose donne un produit complexe avec l'ammoniaque lorsqu'on opère en vase clos; ce fait a été signalé par P. Thénard, Schutzenberger, Dusart (86 *ter*); Tanret (86 *ter*) a appelé glycosyne le corps formé. Les centres nerveux retiennent aussi de la strychnine; les anciens toxicologues recommandaient de la rechercher dans la moelle allongée, mais souvent la réaction est peu prononcée ou négative. Dans l'affaire Rouan, L'Hôte et Pouchet (69*bis*) mirent la strychnine en évidence dans le contenu stomacal, dans le foie, dans l'ensemble formé par les intestins, les reins et le cœur; le cerveau ne présenta pas une réaction nette; elle fut probante pour la moelle épinière et le sang.

Les résultats obtenus par Socquet, Ogier et Balthazard (10) dans un homicide involontaire par la strychnine, se résument comme suit, le réactif de Mandelin (77) ayant été utilisé pour la caractérisation de l'alcaloïde :

Estomac, coloration violette très nette.

Intestins, coloration violette nette.

Reins, coloration violette nette.

Rate, coloration extrêmement faible.

Foie, coloration nette.

Poumons, pas de coloration.

Cerveau, coloration extrêmement faible.

Résumé de deux rapports inédits de M. le professeur Labat.

Affaire X... suicide par la strychnine, février 1932.

La totalité de l'estomac, son contenu constitué par un peu de purée rosée et un fragment d'intestin grêle, le tout pesant 405 grammes, ont été réduits en pulpe au hache-viande et mis à macérer dans de l'alcool tartrique. Le résidu laissé par la distillation de l'alcool a été traité par l'éther de pétrole, l'éther et purifié ensuite selon la méthode originale de Tardieu légèrement modifiée : substitution de l'hydrogène sulfuré au sulfure d'ammonium et filtration après cette opération. Le liquide obtenu a été divisé en deux parties, toutes les deux ont été évaporées au bain-marie à consistance d'extrait mou dans des capsules de porcelaine. L'un des résidus a été mis de côté pour les recherches ultérieures et l'autre a été repris par de l'alcool à 50° pour précipiter les matières gommeuses. Le filtrat a été évaporé à sec au bain-marie et dissous dans 10 cm³ d'eau additionnée d'acide chlorhydrique dilué au dixième. Cette solution a été alcalinisée par l'ammoniaque et épuisée à deux reprises par le chloroforme. Ce dernier a été décanté, filtré et évaporé au bain-marie. Vu à la loupe, le résidu obtenu était en partie cristallin. Il a été dissous dans 4 cm³ d'acide chlorhydrique dilué au dixième; 2 cm³ ont été additionnés de 2 cm³ d'acide chlorhydrique pur et de quelques fragments de zinc amalgamé, le tout a été porté pendant 5 minutes au bain-marie bouillant. Après refroidissement, on a divisé en deux parts : l'une d'elles a été additionnée d'une goutte de solution à 1 p. 1000 de nitrite de sodium, il s'est développé une coloration rose; 3 gouttes d'eau bromée, diluée, ont donné naissance à une teinte pourpre au bout de 15 secondes, dans la seconde part. Les deux colorations se sont maintenues plus de huit jours, les tubes étant conservés en chambre noire.

Ces deux réactions sont caractéristiques de la strychnine; les teintes obtenues ont été immédiatement comparées au colorimètre avec celles qu'on a obtenues dans des conditions techniques avec des solutions titrées de strychnine. Tout calcul

cul fait, on a trouvé que la quantité d'alcaloïde décelée s'élevait à 0 mg. 4 pour 100 g. d'organes.

Les 2 cm³ restant de la solution mentionnée plus haut ont été évaporés à sec au bain-marie dans une capsule de porcelaine; sur le résidu refroidi, on a déposé deux gouttes d'acide sulfurique et un cristal minuscule de dichromate de potassium. En déplaçant ce cristal dans l'acide à l'aide d'une baguette de verre, on a observé des stries violettes très nettes et très abondantes. Cette troisième réaction est également caractéristique de la strychnine.

Enfin, avec la partie d'extrait correspondant à 200 g. de viscères et réservée plus haut, on a effectué une expérience physiologique afin de confirmer les résultats précédents qui, à eux seuls, auraient pu suffire. On a pris 3 grenouilles qu'on a mises chacune dans un bocal plein d'eau. A la première, on a injecté sous la peau de la face interne de la cuisse, le produit de la dissolution de l'extrait précédent dans 2 cm³ d'eau. A la seconde, on a injecté 1 cm³ d'une solution de sulfate de strychnine correspondant à 0 mg. 8 de strychnine, soit la quantité d'alcaloïde trouvée au dosage dans 200 g. d'organes. La troisième grenouille a servi de témoin.

<i>Temps</i>	<i>Grenouille injectée avec l'extrait des organes</i>	<i>Grenouille injectée avec 0 mg. 8 de strychnine</i>
2 minutes	aucun symptôme	contractures et soubresauts
5 —	contractures et soubresauts	tétanos
8 —	tétanos	tétanos
16 —	tétanos	abolition de tout mouve-
23 —	abolition de tout mouve- ment. Mort	ment. Mort

Aux différences individuelles près, les phénomènes sont superposables et confirment les résultats qualitatifs et quantitatifs précédents.

Affaire X..., suicide par la strychnine, novembre 1932.

On a effectué la recherche sur le quart des échantillons d'estomac et de son contenu, de foie, de rate et de rein remis pour l'expertise. La lecture du dossier avait fait penser à un empoisonnement par la strychnine (convulsions et mort très

rapide). Les opérations conduites exactement comme dans le cas précédent, ont permis de retrouver 0 mg. 12 de strychnine pour 100 g. d'organes.

B. Chez les animaux.

1° Chez le chien.

Il y a peu de publications à ce sujet et pourtant les chiens sont souvent tués par ce poison. Une ordonnance royale de Louis-Philippe, mettait à la disposition de la police des boulettes à base de strychnine pour empoisonner les chiens errants.

Lindemann et Motten (70) ont administré 15 milligrammes de strychnine dans du lait à un chien de 12 kg., dans l'espace d'une demi-heure. L'autopsie a été faite trois heures après la mort. Le cœur, le foie, les poumons ont été divisés, réunis au sang et épuisés par de l'eau acidifiée par de l'acide sulfurique. Le liquide séparé a été alcalinisé et placé dans un dialyseur, le chloroforme servant de liquide extérieur. La réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium a été négative sur le résidu laissé par le chloroforme. Le contenu stomacal traité comme précédemment a présenté une réaction nette.

S. Lobo (71) a recherché la strychnine dans les organes d'une chienne de 11 kg. 600 qui avait d'abord reçu 3 g. 50 de véronal par la voie digestive et 100 milligrammes de sulfate de strychnine ensuite par la voie sous-cutanée.

L'alcaloïde dosé en utilisant la technique de François (37) se répartit comme suit :

Organe	Poids de l'organe prélevé <i>en g.</i>	Poids de strychnine <i>en mg.</i>	Strychnine p. 100 <i>en mg.</i>	Evaluation <i>en mg. de sulfate de strychnine</i>
Cerveau.....	75	1,02	1,36	1,30
Cœur et sang	250	0,57	0,22	0,73
Poumons....	115	0,23	0,20	0,29
Tube digestif	520	0,13	0,02	0,16
Foie	390	2,30	0,58	2,94
Pancréas	30	0,21	0,70	0,27
Rate	50	0,12	0,24	0,15
Rein	72	0,54	0,75	0,69

Nous avons corrigé l'évaluation en sulfate de strychnine donnée par l'auteur, le sulfate de strychnine renfermant deux molécules d'alcaloïde, il suffit de multiplier le chiffre exprimé en strychnine par 1,281 pour avoir l'évaluation en sulfate et non par 2,562 comme l'a fait S. Lobo. La strychnine retrouvée dans les viscères représente donc 5 mg. 12 de base ou 6 mg. 53 de sulfate de strychnine.

2° Chez le cobaye.

Schoofs (98) a administré 0 g. 030 de sulfate de strychnine représentant 23 mg. 4 de strychnine base en trois fois à un cobaye, à une demi-heure d'intervalle. Les viscères ont été traités par la méthode de Florence, les résultats sont résumés ci-dessous :

Tableau n° 30.

	Estomac, intestin et leur contenu	Foie et rate	Poumons et cœur	Cerveau	Reins
Poids des organes prélevés	56,5 g.	16,5 g.	5,2 g.	3,2 g.	3,7 g.
Aspect du résidu	cristallin très légère- ment jaune	cristallin incolore	amorphe grisâtre	amorphe blanchâtre	amorphe grisâtre
Poids des résidus alcaloïdiques...	0,0013 g.	0,0016 g.	0,0004 g.	0,0013 g.	0,0013 g.
Action de l'iodure de potassium iodé	+	+	+	+	+
Action de l'iodure bismuthico- potassique	+	+	+	+	+
Réaction à l'acide sulfurique et au dichromate de potassium...	+	+	+	douteux	+

Les résidus obtenus ne sont pas purs et ne donnent qu'une idée très grossière de la quantité d'alcaloïde contenue : un résidu de 1 mg. 3 n'a fourni, en effet, qu'une réaction douteuse avec l'acide sulfurique et le dichromate de potassium.

3° Chez le lapin.

Pancier (86 *ter*) a expérimenté sur le lapin, mais les résultats qu'il a obtenus sont des plus discutables. Les organes ont été soumis à une extraction selon la méthode de Pouchet, les

résidus ont été repris par un excès d'acide sulfurique $\frac{N}{10}$ excès dosé par la solution décimale d'hydroxyde de sodium par la suite. Le fait que les résidus sont loin d'être purs, condamne une telle méthode de dosage et conduit aux conclusions étonnantes que voici :

Un lapin de 3 kg. 750 a reçu 620 milligrammes de sulfate de strychnine à doses progressives, par la voie digestive, du 1^{er} octobre au 25 novembre. Les quantités d'alcaloïde retrouvées sont les suivantes exprimées en sulfate :

Estomac et son contenu.....	223 mg.
Foie	123 —
Muscle	103 —
Intestin	46 —
Cerveau.....	11,5

La quantité de sulfate de strychnine retrouvée est donc de 506 mg. 5. Dans nos expériences l'alcaloïde a été donné par la voie sous-cutanée, et nous n'avons jamais pu arriver à une accumulation approchant de la précédente et de toutes celles signalées par Pancier : notre lapin n° 1 a succombé à une dose totale de 4 mg. 76 de strychnine administrée en onze jours ; notre lapin n° 2 est devenu paralytique après avoir reçu une dose totale de 5 mg. 35 de strychnine en dix jours.

Recherches personnelles.

A. Chez l'homme.

Nous avons eu l'occasion de rechercher la strychnine dans les organes de deux femmes intoxiquées par le gardénal et traitées par la strychnine.

1° Il s'agit d'une jeune fille L. A. âgée de 19 ans, ayant absorbé une quantité inconnue de gardénal ; la malade est restée 36 heures dans le coma, avant sa mort. Le traitement a consisté en huit injections intraveineuses de 1 cm³ 5 et en 40 injections sous-cutanées de 1 cm³ de la solution à 1 p. 100 de sulfate de strychnine, représentant 0 g. 52 de ce sel et 0 g. 405 de strychnine. La malade a reçu de plus 6 ampoules de coramine et du carbogène. A l'autopsie, faite 48 heures

après la mort, on a prélevé la rate, un rein, un fragment de foie et une partie de l'estomac pour l'examen chimique.

Pensant retrouver de fortes proportions d'alcaloïde, vu les quantités administrées, nous avons utilisé plusieurs méthodes d'extraction, pour les comparer une fois de plus entre elles, sur les organes dont nous disposions en plus grande quantité. Le barbiturique était dans tous les cas obtenu par l'évaporation de l'éther acide, le résidu était purifié par le noir animal, selon la méthode de Fabre; après l'avoir pesé on le caractérisait par les micro-réactions de Denigès (25). Le liquide ayant subi l'extraction par l'éther était alcalinisé par de l'ammoniaque et épuisé par le chloroforme. Le résidu laissé par le chloroforme était purifié, en suivant la technique que nous avons préconisée et, finalement l'alcaloïde extrait était dissous dans 1 cm³ d'acide chlorhydrique au demi et on comparait la coloration obtenue en effectuant la réaction hydrostrychnique à une gamme analogue à celle que nous avons décrite, en adjoignant quelques tubes de plus au besoin.

Les résultats sont résumés ci-dessous :

Tableau n° 31

Organes	Méthode utilisée	Poids d'organes en g.	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine p. 100 en mg.	Gardénal p. 100 en mg.
Rate	Stas	60	0,010	0,0166	17,2
—	Florence	69	0,008	0,0114	
—	Husemann	65	0,009	0,0135	
Estomac	Stas	48	0,012	0,0250	6,8
Rein	Stas	55	0,008	0,0145	5,9
—	Husemann	58	0,008	0,0136	
Foie	Stas	41	0,014	0,0340	9,2

Dans tous les cas, il a été facile de caractériser le barbiturique et la strychnine, mais les quantités de strychnine retrouvées sont infimes en regard de celles administrées.

2° L'observation résumée de cette malade a été donnée page 133 (observation n° 4). L'autopsie a été faite 48 heures après la mort et on a prélevé la rate, une partie du foie et de

l'estomac pour l'examen chimique, L'extraction a été faite par la méthode de Stas-Otto modifiée, complétée par notre technique de purification. Les résultats sont résumés ci-dessous.

Tableau n° 32

<i>Organes</i>	<i>Poids en g.</i>	<i>Strychnine retrouvée en mg.</i>	<i>Strychnine p. 100 en mg.</i>	<i>Gardénal p. 100 en mg.</i>
Estomac....	65	0,030	0,046	20,1
Rate	120	0,018	0 015	26,2
Foie	102	0,022	0,021	30

B. Chez l'animal.

1° *Chez le chien.* — Nous avons recherché la strychnine chez un chien qui avait présenté les symptômes de l'empoisonnement par cet alcaloïde. On a soumis à l'expertise l'urine, le tube digestif avec le foie et un morceau de viande extrait de l'estomac par le vétérinaire. Les organes étant extrêmement putréfiés et méconnaissables, la recherche a été faite sur l'ensemble des viscères, sur le morceau de viande et sur l'urine. La méthode d'extraction a été celle de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest et complétée par la méthode de purification au réactif iodomercureux, selon notre technique. L'alcaloïde a été caractérisé par la réaction hydrostrychnique; dans tous les cas, le résidu était dissous dans 2 cm³ d'acide chlorhydrique dilué à 1 p. 100 et on effectuait une recherche par la réaction précédente sur 0 cm³ 1 de ce liquide additionné de 0 cm³ 15 d'eau distillée et de 0 cm³ 25 d'acide chlorhydrique pur. On déduisait approximativement la quantité de strychnine et dans le cas du morceau de viande, du tube digestif et du foie, nous avons dilué convenablement une partie de la solution avec de l'eau distillée pour l'amener à un titre en alcaloïde de 0,4 à 0,6 mg. p. 100 approximativement; on effectuait alors un dosage suivant la seconde tech-

nique indiquée page 57 en employant un étalon à 0 mg. 5 p. 100 de strychnine. On a obtenu les résultats suivants :

	Poids	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine p. 100 en mg.
viande extraite de l'estomac.	35 g.	8.44	24,11
Tube digestif et foie.	1440g	12,32	0,855

L'alcaloïde a été extrait de l'urine par notre méthode :

Volume 75 cc.; strychnine retrouvée : 0,080 mg.; strychnine p. 100 : 0,106 mg.

On doit conseiller de recueillir l'urine avec soin : on a là un liquide d'où l'alcaloïde est facile à extraire; cet examen fournit rapidement une indication sérieuse.

2° *Chez le lapin.* — Nous avons injecté à des lapins des quantités croissantes de strychnine, pour les lapins n° 1, 2, 3 et 4 le détail et les dates des injections ont été indiqués précédemment (voir tableaux 22, 23, 24, 25).

Lapin n° 1.

Tableau n° 33.

Organes	Poids en g.	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine calculée pour 100 g. d'organe
Cerveau.....	14	0,0017	0,0121
Foie	62	0,009	0,0145
Reins	14	0,004	0,0285
Intestin.....	48	0,001	0,0020
Estomac.....	14	0,0006	0,0042
Contenu intestinal	73	0,008	0,0109
Contenu stomacal.	18	0,007	0,0388
Cœur.....	12	0,0006	0,0050
Poumons.....	14	0,002	0,0142
Muscle	47	0,0035	0,0074
Urine de la vessie.	13	0,0007	0,0053

Pour les lapins n° 1 et n° 2, nous avons effectué l'extraction selon la méthode de Stas-Otto, modifiée par Ogier et Kohn Abrest. Comme il ne s'agissait que de rechercher la strychnine, après l'épuisement par l'éther de pétrole on alcalinisait par l'hydroxyde de sodium et on agitait avec du chloroforme. Le résidu obtenu a été purifié par la méthode de Tardieu-Lorain et Roussin, telle que nous l'avons modifiée. Nous avons prélevé le muscle au niveau des cuisses et du dos, dans des parties assez éloignées de l'endroit piqué, dans tous les cas. Le résidu laissé par le chloroforme a été dissous dans 0 cm³ 5 d'acide chlorhydrique au demi et nous avons transvasé dans un tube à essai de 10 cm de haut et de 8 mm. de diamètre. Nous avons ajouté une aiguille de zinc pur, nous avons porté à l'ébullition. Après un abandon de 3 à 4 minutes, le liquide a été décanté dans un tube à essai identique, refroidi et additionné d'une goutte de nitrite de sodium à 1 p. 10.000. La coloration rose obtenue a été comparée à celle de la gamme (page 60). Les tableaux qui suivent indiquent les résultats :

Tableau n° 34.

Organes	Poids en g.	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine calculée pour 100 g. d'organes
Vessie	7	0	0
Urine de la vessie ..	80	0	0
Cœur	14	0,0015	0,0057
Poumons	11	0,0008	0,0136
Reins	15	0,0038	0,0253
Estomac.....	25	0,001	0,004
Muscle	58	0,0006	0,0010
Sang	19	0	0
Cerveau	9	0,0006	0,0066
Intestin	132	0,0007	0,0005
Contenu intestinal .	162	0,0008	0,0004
Contenu stomacal .	152	0,001	0,0006
Foie	53	0,0015	0,0023

Les quantités de strychnine retrouvées sont infimes en regard des doses administrées. Le lapin n° 1 avait reçu 4 mg. 76 de strychnine et le lapin n° 2, 7 mg. 85. Les résultats obtenus dans le cas du second lapin sont plus faibles que pour le premier et pourtant il avait reçu une dose de strychnine plus forte. Il y a probablement lieu d'évoquer ici l'accumulation, le lapin n° 2 étant devenu paralytique à la suite d'injections représentant 5 mg. 35 de strychnine, en 10 jours a cessé d'être traité jusqu'au moment de l'administration d'une quantité mortelle de cet alcaloïde. Pendant ce laps de temps, une petite partie de la strychnine a été éliminée et une autre plus grande transformée dans l'organisme.

Les lapins n° 3 et n° 4 ont reçu à la fois de la strychnine et de la brucine : les dates des injections ont été indiquées aux tableaux 24 et 25 lorsque nous avons étudié l'élimination des alcaloïdes. L'extraction a été faite quelquefois par la méthode de Stas-Otto (85), par la technique de Husemann (53) dans le cas de muscle et le plus souvent par la méthode à l'acide trichloracétique : le contact des organes divisés était maintenu pendant plusieurs heures avec l'acide en solution à 20 p. 100; ce détail mis à part, nous suivions la technique indiquée par Florence (33). Nous avons pu ainsi, pour le muscle en particulier, comparer les résultats donnés par ces trois procédés. Comme précédemment, le résidu était soumis à la purification à l'aide du réactif iodomercurique.

Recherche et dosage des alcaloïdes.

1° Le résidu laissé par le chloroforme était dissous dans 0 cm³ 25 d'acide chlorhydrique dilué à 1 p. 100 et nous ajoutions goutte à goutte de l'eau bromée saturée diluée au dixième jusqu'à coloration jaune, le liquide était décoloré par une goutte ou deux de solution officinale de bisulfite de sodium diluée à 1 p. 100, la capsule était lavée avec 0 cm³ 25 d'acide chlorhydrique pur qu'on joignait au liquide précédent dans un tube à essai de 10 cm. de haut et de 8 mm. de diamètre, on portait à l'ébullition. Lorsque le résidu contient de la brucine en quantité suffisante on doit obtenir une teinte gro-

seille. Ce premier temps de la réaction donna un résultat négatif pour les organes des lapins n° 3 et 4.

2° Au liquide précédent on ajoutait une aiguille de zinc pur Poulenc et on portait à l'ébullition. Lorsque la réaction de François (37) a été positive, on voit alors disparaître la coloration rouge groseille. Après avoir abandonné le tube 3 à 4 minutes à lui-même et après refroidissement on ajoutait une goutte de solution de nitrite de sodium à 1 p. 10.000, dans le cas de présence de strychnine on obtient une teinte rose. On la comparait à la gamme étalon.

Lapin n° 3

Tableau n° 35

Organes	Poids en g.	Méthode employée	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine calculée pour 100 g. d'organes	Réaction de François pour la brucine
Sang	27	Florence	0,0012	0,0044	—
Poumons	13	Florence	0,012	0,0923	—
Reins	17	Florence	0,006	0,0352	—
Cœur	14	Florence	0,0008	0,0057	—
Cerveau	8	Florence	0,0015	0,0187	—
Estomac	27	Florence	0,013	0,0481	—
Contenu stoma- cal	70	Florence	0,003	0,0042	—
Intestin	93	Florence	0,017	0,0182	—
Contenu intesti- nal	172	Florence	0,004	0,0023	—
Vessie	7	Stas Otto	0,006	0,0857	—
Urine et la ves- sie	26	méth. pers.	0,007	0,0269	—
Muscle	140	Stas Otto	0,006	0,004	—
Muscle	78	Florence	0,0028	0,0036	—
Muscle	115	Husemann	0,004	0,0034	—
Foie	45	Stas Otto	0,020	0,0444	—
Foie	48	Florence	0,011	0,0229	—

La vessie et l'urine du lapin n° 4 sont beaucoup plus riches en strychnine que pour les 3 lapins précédents. Ce fait est peut-être dû à la lenteur de la mort : ce lapin a résisté une demi-heure à la dernière injection.

Ici encore, on voit que si la méthode de Florence plus rapide donne des résultats positifs, c'est celle de Stas-Otto qui fournit les meilleurs rendements.

Lapin n° 5.

Nous décrivons les symptômes présentés par ce lapin et par le suivant, ils ont reçu en une seule fois une dose mortelle de brucine et de strychnine. La réaction de François (37) nous ayant donné des résultats négatifs chez les lapins n° 3 et n° 4, nous avons augmenté considérablement les doses de brucine pour voir si elle permet dans certains cas de déceler cet alcaloïde en toxicologie.

Lapin n° 4

Tableau n° 36

Organes	Poids en g.	Méthode employée	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine calculée en mg. p. 100 organes	Réaction de François pour la brucine
Muscle	84	Stas Otto	0,001	0,0011	—
Muscle	109	Florence	0,0011	0,0010	—
Muscle	82	Husemann	0,0008	0,00097	—
Poumons	12	Stas	0,0015	0,0125	—
Cœur	10	Florence	0,0007	0,007	—
Cerveau	8	Florence	0,0025	0,0325	—
Reins	12	Stas	0,001	0,0083	—
Reins	10	Florence	0,0007	0,0070	—
Estomac	55	Stas	0,005	0,0090	—
Contenu stomacal	155	Florence	0,0008	0,0005	—
Intestin	68	Florence	0,0011	0,0016	—
Contenu intestinal	97	Florence	0	0	—
Vessie	7	Florence	0,018	0,2571	—
Urine de la vessie	35	méth. pers.	0,009	0,0257	—
Foie	29	Florence	0,004	0,0137	—
Foie	31	Stas	0,005	0,0161	—
Sang	65	Florence	0,0006	0,0009	—

Le lapin n° 5 était une femelle de 3 kg. 400 : le 25 juillet 1934 à 16 heures 10 minutes nous lui avons injecté sous la

peau du dos 3 cm³ d'une solution de brucine représentant 30 milligrammes de cet alcaloïde; 5 minutes plus tard, il a reçu par la même voie 3 cm³ d'une solution de sulfate de strychnine correspondant à 3 milligrammes de strychnine. L'animal qui est en liberté court allègrement, au bout de quelques minutes il devient inquiet et reste immobile.

A 16 heures 15, il s'élance la tête relevée dans la position du lapin en pleine course avec cette différence que les membres antérieurs sont un peu rentrés; il tombe d'une seule masse sur le côté. Les membres sont rigides, les dents grincent et le corps est secoué par un spasme violent. Dans l'intervalle des crises, les muscles sont détendus; après deux crises moins violentes que la première, l'animal meurt à 16 heures 30. Dans ce cas encore, la brucine a atténué les phénomènes du strychnisme.

Recherche et dosage des alcaloïdes.

La recherche et le dosage des alcaloïdes ont été pratiqués comme pour les lapins n° 3 et n° 4.

La réaction de François n'a pas permis de mettre en évidence la brucine sauf dans le foie.

Réaction à l'acide nitrique.

Les capsules dans lesquelles on évapore le chloroforme et où on effectue la dissolution des résidus, pour les transvaser dans de petits tubes à essais, restent toujours imprégnées de traces de solution chlorhydrique des alcaloïdes. Nous avons versé 3 gouttes d'acide nitrique pur dans chaque capsule, pour voir si on n'avait pas là matière à déceler la brucine. La réaction a été nettement positive dans la plupart des cas.

L'utérus contenait une quantité de strychnine plus forte que les autres organes; par contre la vessie a donné une réaction négative et pourtant c'était l'organe le plus riche en strychnine chez le lapin n° 4.

Lapin n° 6

C'est une femelle pesant 3 kg. 100.

A 16 heures 10 nous lui avons injecté 5 cm³ d'une solution de brucine représentant 50 milligrammes de cet alcaloïde, cinq minutes plus tard l'animal a regu, toujours dans la région dorsale et par la voie sous-cutanée, 1 cm³ d'une solution à 1 p. 100 de sulfate de strychnine représentant 7 mg. 80 de strychnine base. Le lapin a présenté une crise courte à 16 heures 20, immédiatement suivie de mort. Pendant la crise, il y eut de violentes émissions d'urine et à l'autopsie la vessie fut trouvée vide. Gallard (40), dans son mémoire sur la strychnine, relate un grand nombre d'expériences sur des chiens et des lapins. Il signale qu'après l'administration du poison, la vessie se vide avec force. Ceci paraît surtout exact lorsque la dose de strychnine est forte, comme dans le cas du lapin n° 6 et dans toutes les expériences de Gallard.

Lapin n° 5

Tableau n° 37

Organes	Poids en g.	Méthode utilisée	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine calculée pour 100 g. d'organes	Réaction de François pour la brucine	Brucine retrouvée en mg.	Brucine calculée p. 100 g. d'organes	Réaction à l'acide nitrique pour la brucine
Reins	23	Florence	0,0010	0,0043	—			+
Poumons ..	13	Stas	0	0	—			—
Vessie	6	Florence	0	0	—			—
Utérus ...	16	Florence	0,0170	0,1062	—			+
Cerveau ...	10	Florence	0,0006	0,006	—			—
Cœur	12	Florence	0,0008	0,0066	—			—
Sang	70	Florence	0	0	—			—
Matières féc.	49	Florence	0,002	0,004	—			+
Estomac ..	65	Stas	0,002	0,0030	—			++
Muscle	103	Stas	0,021	0,020	—			+
Muscle	123	Florence	0,009	0,007	—			+
Muscle	85	Husemann	0,01	0,0117	—			+
Intestin....	90	Florence	0,002	0,0021	—			+
Contenu stomacal.	170	Florence	0,007	0,0041	—			+
Foie	71	Stas	0,012	0,0169	+	0,080	0,112	+++
Foie	38	Florence	0,006	0,0157	+	0,030	0,079	+++
Urine de la vessie.....	28	méth. pers.	0	0	—			—

Les quantités d'alcaloïdes retrouvées sont faibles si l'on tient compte que les quantités données sont plus élevées que dans les autres cas. La mort étant arrivée rapidement, le poison n'a pas eu le temps d'être complètement absorbé et réparti dans l'organisme.

Tableau n° 38

Organes	Poids en g.	Méthode utilisée	Strychnine retrouvée en mg.	Strychnine calculée pour 100 g. d'organes	Réaction de François pour la brucine	Brucine retrouvée en mg.	Brucine calculée p. 100 g. d'organes	Réaction à l'acid nitrique pour la brucine
Muscle	106	Stas	0,008	0,0075	—			—
—	103	Husemann	0,006	0,0058	—			—
—	42	Florence	0	0	—			—
Sang	77	Florence	0,0024	0,0031	—			+
Poumons ..	11	Florence	0,002	0,0182	—			+
Reins	10	Florence	0,0044	0,044	—			+
—	21	Stas	0,012	0,0571	—			+
Cerveau ...	9	Florence	0,0026	0,0288	—			+
Cœur	12	Florence	0,0060	0,050	—			—
Contenu intestinal.	112	Florence	0,001	0,0008	—			+
Utérus	15	Florence	0,0028	0,0186	—			+
Vessie	7	Florence	0,0040	0,0571	—			+
Foie	38	Stas	0,0222	0,0584	+	0,85	2,23	+++
—	40	Florence	0,0140	0,0350	+	0,70	1,75	+++
Contenu stomacal ..	255	Florence	0,0022	0,0008	—			+
Intestin ...	54	Stas	0,0030	0,0055	—			+
—	31	Florence	0,0015	0,0048	—			+
Estomac ..	28	Stas	0,0124	0,0442	+	0,025	0,89	+++
—	25	Florence	0,008	0,0320	+	0,015	0,60	+++

Conclusions.

D'une façon générale, les quantités de strychnine retrouvées dans les organes des intoxiqués par le gardénal traités par la strychnine sont très faibles, par rapport aux quantités administrées; la même conclusion s'applique aussi au cas des lapins. D'autres auteurs ont traduit ce fait d'une autre manière en disant qu'on ne retrouve que la quantité surpassant dose mortelle.

Dans la plupart de nos recherches, nous avons mis la strychnine en évidence dans la paroi stomacale, le contenu stomacal, l'intestin et son contenu, démontrant ainsi l'élimination d'une partie de la strychnine au niveau du tube digestif. Ceci est particulièrement net dans le cas de l'intoxiqué n° 2 (tableau 32), l'estomac est le plus riche en strychnine des organes examinés.

CONCLUSIONS

I. Nous avons comparé entre elles les sensibilités des réactions les plus connues de la strychnine et montré qu'on a tout intérêt à utiliser la réaction hydrostrychnique en toxicologie. Elle permet en effet la caractérisation et le dosage de quantités de strychnine au moins égales à 0 mg. 0005, lorsqu'on dissout un résidu purifié d'extraction dans 0 cm³ 5 d'acide chlorhydrique dilué au demi.

Quant aux réactions microchimiques, celles qui sont basées sur l'emploi de l'acide nitrique dilué au cinquième et de la solution saturée d'acide oxalique sont les plus sensibles.

Enfin, la meilleure façon d'extraire la strychnine de ses solutions salines consiste à employer le chloroforme comme dissolvant et l'ammoniaque ou l'hydroxyde de sodium comme agent libérateur.

II. Nous avons étudié les réactions analytiques de la brucine et vérifié que la réaction de François (n° 3) donne de bons résultats avec les solutions pures ; la sensibilité de cette réaction est considérablement diminuée dans le cas de la brucine extraite d'organes, même après une purification très soignée.

La réaction à l'acide nitrique permet d'apprécier en toxicologie des quantités de brucine au moins égales à 0 mg. 01.

Nous avons décrit un procédé personnel pour caractériser la brucine et la strychnine sur la même prise d'essai.

III. Les poissons rouges sont assez sensibles à l'action de la strychnine, mais les symptômes qu'ils présentent sont peu caractéristiques.

Nous préférons comme réactif biologique la Souris blanche ou mieux la Grenouille qui nous semble l'animal de choix : une grenouille de 5 grammes réagit à 0 mg. 006 de strychnine à la température de 25°.

En outre, nous avons montré l'action phylactique de la brucine vis-à-vis de la strychnine chez la Grenouille.

IV. Nous avons résumé et commenté les principales méthodes d'extraction de la strychnine en toxicologie.

Les méthodes d'extraction qui donnent les meilleurs résultats sont celle de Stas-Otto modifiée par Ogier et Kohn Abrest et celle de Lobo à l'acétone.

V. Nous avons résumé et commenté les principaux procédés servant à purifier la strychnine contenue dans les résidus impurs abandonnés par les méthodes d'extraction.

Nous avons donné le choix à la méthode injustement oubliée de Tardieu, Lorain et Roussin et nous l'avons perfectionnée.

VI. a) Nous avons montré que la strychnine est absorbée par la peau saine.

b) On peut mettre cet alcaloïde en évidence dans l'urine de malades qui en reçoivent même de faibles doses.

c) Les intoxiqués par les barbituriques traités par la strychnine éliminent une faible partie de cet alcaloïde par l'urine ; les quantités de barbituriques rejetées par le rein sont au contraire importantes.

d) La strychnine résiste mal à la putréfaction : quand elle a été ajoutée à des organes frais on en retrouve, quelques heures après, de 37 à 55 p. 100 ; mais, après huit mois de putréfaction des organes en vase clos, on n'en peut plus extraire que de 1,3 à 6,4 p. 100 de la dose mise en expérience.

Jusqu'ici on n'a pas pu montrer si l'alcaloïde est réellement détruit pendant la putréfaction ou s'il contracte quelque combinaison qui entrave sa diagnose.

e) On ne retrouve dans les organes de l'Homme, du Chien, du Lapin, qu'une faible quantité de la brucine et de la strychnine administrées.

Les doses éliminées étant également minimales, rien n'empêche d'admettre avec Kohn Abrest et Cushny que la matière vivante est capable de détruire en partie la strychnine.

Vu :

Le Doyen,
Pierre MAURIAC.

Vu, bon à imprimer :

Le Président,
J. A. LABAT.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 19 décembre 1934.

Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Allerton S. Cushmann.** — *Ann. de Ch. analy.*, 1896, p. 15.
2. **Alloy (J.), Valdiguié (A.) et Aloy (R.).** — *Bull. Soc. chim. de France*, t. XXIX, mai 1926, p. 792.
- 2bis. — **Alvaro Serra Negrao.** — *Archivo de Medicina Legal*, Lisbonne, 5^e vol., p. 45.
3. **Bachrach (E.).** — *Bull. sc. pharm.*, 1928, t. XXXV, p. 15.
4. **Baillon (H.).** — *Traité de botanique médicale*, Paris, 1883-84, p. 1216.
5. **Bakunin (M.) et Majone (V.).** — *Rend. Accadem. sc. Fis. Mat., Napoli*, XI, p. 333, 1905.
6. **Baudrimont.** — *Journ. de ph. et ch.*, t. X, p. 59.
7. **Beaumont.** — *La strychnine dans le barbiturisme aigu*, thèse méd. Bordeaux, 1934, p. 28 et p. 44.
8. **Bergeron (G.) et Séverin Caussé.** — *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, t. L, 1878, p. 272.
9. **Bertrand-Fontaine (Mme) et Claass (M. A.).** — *Bulletin et Mémoires de la soc. des hôp. de Paris*, p. 1177, 1933.
10. **Blancher.** — *Séparation quantitative de la strychnine et de la brucine*, thèse de Ph. de Paris, 1902-1903.
11. **Brûlé (M.).** — *Siècle médical*, 10 nov. 1933.
12. **Chandelon.** — *Berichte*, 1885, n^o 11, p. 416.
13. **Chapuis (A.).** — *Précis de toxicologie*, J.-B. Baillièrre et fils, 1897, p. 594.
14. **Colin (F.).** — *Sensibilité comparée des réactifs chimiques et physiologiques de la strychnine*, thèse méd. Lyon, 1899-1900.
15. **Cotton.** — *Zeit. f. chemie*, t. XXXV, p. 76.
16. **Christison.** — *Treatise on poisons*, 1836.
17. **Cushny.** — *Pharmacology and therapeutic or the action of drugs*, 8^e éd., p. 276.
18. **Dellas (G.).** — *Recherches expérimentales sur la strychnine*, thèse méd. Toulouse, 1901-1902.
19. **De Meyrignac (H. P.).** — *De l'empoisonnement par la strychnine*, thèse méd. Paris, 1859.
20. **De Nabias et Dupouy.** — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1903, p. 102-108; 133-139 et 1904, p. 193-194.
21. **Denigès (G.).** — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1903, p. 97.

22. — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1911, p. 145, et *Bull. soc. ch. de France*, 1911, p. 537.
23. — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1914, p. 293.
24. — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1917, p. 5.
25. — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1930, p. 155.
26. — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1931, p. 157.
27. **Dié** (voir Ogier et Kohn Abrest). — *Traité de chimie toxicologique*, t. II, p. 157.
- 27 bis. — **Douris**. — *Précis de chimie toxicologique*, 1934.
28. **Dragendorff**. — *Manuel de toxicologie*, 2^e éd. française, 1886, Libr. F. Savy, p. 223.
29. — *Die Ermittlung von Giften*, Göttingen, 1888, p. 155.
- 29 bis. — **Dujardin**. — *Contribution à l'étude du dosage de la strychnine et de la brucine dans la noix vomique*, thèse de ph. de Lille, 1924.
30. **Erdmann** et **Uslar**. — *Ann. der chem. und der ph.*, t. c. XX, p. 121 et 360.
31. **Fabre** (R.). — *Bull. sc. pharm.*, 1925, t. XXXII, p. 279.
- 31 bis. — **Fabre** (R.) et **Fredet**. — *Journ de ph. et de ch.*, 1925, t. II, p. 321.
- 31 ter. **Fabre** (R.). — « Orientation moderne de la toxicologie », Congrès de l'association française pour l'avancement des sciences, 1933.
32. **Filippi**. — *The pharm. journ.*, 23 déc. 1916, p. 596.
- 32 bis. — **Flandin**. — *Traité des poisons*, t. III, p. 252.
33. **Florence**. — *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, mars 1924, p. 79 et *Bull. soc. chim. de France*, 1927 (4^e), 41, p. 1097 et 1242.
34. **Fluckiger**. — *Year book*, 1886, p. 463.
35. **Focke**. — *Journ. de ph. d'Alsace et Lorraine*, 1886.
- 35 bis. — **Fonzes-Diacon**. — *Précis de toxicologie*, 1930.
36. **François** (A.). — *Bull. soc. ph. de Bordeaux*, 1930, p. 156.
37. — *Brucine, strychnine, dosage colorimétrique*, thèse de ph. de Bordeaux, 1931.
38. **François** (M.). — *Journal de ph. et ch.*, 1928, t. VII, p. 336.
39. **Gadreau** (M.). — *Contribution à l'étude des ferrocyanhydrates d'alcaloïdes et de leurs applications analytiques*, thèse de ph. de Paris, 1927.
40. **Gallard**. — « De l'empoisonnement par la strychnine », Mémoire lu à l'Académie impériale de médecine dans les séances du 17 septembre et du 7 octobre 1862, et *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, 2^e série, 1865, t. XXIV.
41. **Garnier**. — *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, 1890, 3^e série, t. XXIV, p. 501.
42. **Graham** et **Hoffman**. — *Quart. Journ. for the chem. Soc.*, t. V, 173 et *Journ. de ph. et de ch.*, 3^e série, 1852, t. XXII, p. 397.
43. **Groneman** (J.). — « Strychnine — houdende drekstof van een strychnine — etenden kwer Geneesk Fijdschr V. Nederl. », *Indië Batav.*, 1881, n. 5, x 679-692.

44. **Guérin** (G.). — *Journ. de ph. et de ch.*, 6^e série, t. XVII, p. 553-1903.
45. — *Journ. de ph. et de ch.*, (7), t. IX, p. 595-597; 6, 1914.
46. **Guy**. — « On the sublimation of alcaloïde », *Pharmaceutical journal*, 1866-67, p. 718; 1867-68, p. 10; p. 58, p. 106; p. 195.
47. **Héger**. — Thèse d'agrégation, Bruxelles, 1873.
48. — *Journ. de méd. de Bruxelles*, 1878.
49. **Henry** (O.). — *Journ. de ph. et ch.*, 2^e série, 1835.
50. **Helwig**. — « Erkennung organischer Basen durch sublimation », *Zeitschr. anal. chem.* III, 43.
51. **Herder**. — *Arch. der pharm.*, 1906, p. 120.
52. **Horsley**. — *Pharm. journ.*, 1857, t. XVI, p. 179.
53. **Husemann**. — *Handbuch der Toxicologie*, 1862.
54. **Ionesco-Matiu** (Al.) et **Varcocivi** (H.). — *Bull. soc. chim. biol.*, 1928, 71 p. 392.
55. **Ipsen** (M.-C.). — *Ann. de ch. analyt.*, 1898, p. 133.
56. **Joanid** (N.-D.). — *Bull. soc. chim. biol.*, 1930, 7, 1001.
57. **Joanin** (A.). — *Strychnine et Strychnées*, Boulanger, Dausse et Cie, Paris, 1916.
58. **Janssen**. — *Zeitschrift f. anal. chemie*, t. IV, p. 48.
- 58 bis. — **Kohn Abrest**. — *Précis de chimie toxicologique*, 1934.
59. **Koll** (Werner). — *Archiv. für exp. Path. und pharm.*, 1931, t. CLXII, p. 307-319.
60. — *Arch. für exp. path. und pharm.*, 1931, t. CLXII, p. 320-341.
61. **Krug** (Th.). — *Zum strychninnachweis*, thèse de Berlin, 1913.
62. **Kunde**. — *Wirchows archiv.*, t. XVIII.
- 62 bis. **Kundrat**. — *Chemiker Zeitung*, 1898, p. 786.
63. **Lachaise**. — *Sur les méthodes de dosage des alcaloïdes dans les préparations de strychnées*, thèse de pharm. de Paris, 1927.
- 63 bis. **Labat** (J.-A.). — « Barbituriques », *Bull. soc. pharm. de Bordeaux*, t. IV, 1933.
64. **Langlois** et **Richet**. — *Arch. de physiol.*, 1892.
65. **Laval** (P.). — *Essai sur la recherche microchimique de la strychnine*, thèse de ph. de Montpellier, 1891.
66. **Lefebvre** (J.). — Thèse de pharm. de Paris, 1911-12.
67. **Lefort**. — *Revue scient. et industr. de Quesneville*, 1844, t. XVI, p. 355.
68. **Le Mehaute** (P.). — *De l'empoisonnement par la strychnine en médecine judiciaire*, thèse méd. de Lyon, 1887-1888.
- 68 bis. — **Lenz**. — *V. Journ. de ph. et ch.*, t. IX, 6^e série, 1899, p. 64.
69. **Lewin** et **Pouchet**. — *Traité de toxicologie*, 1903.
- 69 bis. — **L'Hôte** et **Pouchet**. — *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, 3^e série, 19, p. 319, 1888.
70. **Lindemann** et **Motten**. — *Bull. de la soc. chim. de Paris*, 20 juin 1893 et *J. de ph. et ch.*, t. XXVIII, p. 373.

71. **Lobo** (S. Rodolfo). — *Etude critique des méthodes d'extraction des toxiques organiques*, thèse de ph. de Paris, 1934.
72. **Lopez-Lomba**. — Thèse méd. Paris, 1922.
73. **Magnin** (J.). — *Journ. de ph. et de ch.*, 8^e, 1927, 5 p., 316.
74. **Magnin**, Sanchez Ubedda et Gold, *J. de ph. et de ch.*, 1927, 8^e, 323.
75. **Malaquin**. — *Journ. de ph. et de ch.*, 6^e série, t. XX, p. 546, 1909.
76. — *Bull. Sc. pharm.*, p. 689, 1927.
77. **Mandelin**. — *Pharm. Zeitschr. f. Russland*, t. XXII, p. 345; 361, 377, 1883.
78. **Marchand**. — *Journ. de ph. et de ch.*, 3^e série, 1843, t. IV, p. 200.
79. **Maricq** (L.). — *Bull. soc. chim. belge*, 1929, t. XXXVIII, p. 426.
80. **Marquis de Compiègne**. — *L'Afrique équatoriale : Gabonais, Pahouins, Gallois*, Paris, 1876 (2^e série).
81. **Mayer**. — *Améric. journ. of pharm.*, t. XXXV, p. 20, 1863.
- 81 bis. — **Mecke**. — *Pharm. Zeile*, 1898, p. 309.
82. **Merk**. — *Tromsdorf's Journ.*, t. XX.
- 82 bis. — **Mühe**. — *Zeitsch. f. analyt. chemie*, 1908, p. 445.
83. **Nothnagel** et **Rosbach**. — *Nouveaux éléments de matière médicale et de thérapeutique*, 1880, p. 661.
84. **Orfila**. — *Traité de toxicologie*, 16161
85. **Ogier** et **Kohn Abrest**. — *Traité de chimie toxicologique*, 1924.
86. **Otto**. — *Journ. für prakt. chem.*, t. XXXVIII, p. 111.
- 86 bis. — **Lieb. ann., 1856, t. C, p. 44.**
- 86 ter. **Pancier**. — Thèse pharm. sup. Lille, 1908-1909
87. **Pelletier** et **Caventou**. — Mémoire sur la strychnine, nouvel alcali végétal trouvé dans la fève de Saint-Ignace et la noix vomique, *Ann. de ch. et de ph.*, 1819, t. X, p. 142-176.
88. — *Ann. de ch. et de ph.*, t. XII, p. 113, et t. XXVI, p. 265.
89. **Plugge**. — *Arch. de ph.*, 1885, p. 847.
90. **Popoff**. — Documents Labor. toxicol. Brouardel, Ogier, Paris, 1891, p. 203.
91. **Pozzi-Escot**. — *Ann. de ch. analyt.*, 1902, p. 125, et 337.
92. **Prollius**. — *Vierteljahrschrift. für gericht. med.*, 1860, p. 18.
93. **Rautenfeld**. — *Ueber die Ausscheidung des strychnins*, 1884.
94. **Rodgers** (G. E. D.) et **Girwood** (G. P.). — *Pharmaceutical Journal* 1857, t. XVI, p. 497.
95. **Roger**. — Thèse méd. de Paris, 1887.
96. **Salussola** (Ch.). — Thèse de ph. de Lyon, 1934.
- 96 bis. **Schaer** (E.-D.). — *Journ. suisse de ph.*, 1909, p. 623.
97. **Scheibler**. — *Tageblatt der 45 Versamml. dent. Naturforscher und Aerzte in Leipzig*, t. XII, 8 août 1912.
98. **Schoofs**. — *Bull. ac. roy. méd. belge*, 1925 (5^e), 5, 570.
99. — *Bull. ac. roy. méd. belge*, 1927 (5^e), 7, 832.
100. **Selmi**. — *Bull. delle scienze med. di Bologna*, 1879.

101. **Socquet, Ogier et Balthazard.** — *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, 7, p. 532, 1907.
 102. **Sonnenschein.** — *Liebigs ann. der chemie un der pharm.*, t. C, IV, p. 45, 1857.
 103. **Stas (I.-S.).** — *Bull. ac. roy. méd. belge*, 1850, t. II, p. 304.
 104. Statistique des empoisonnements en Angleterre pour 1903, *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, 1905, t. VII, p. 532.
 105. — Statistique des empoisonnements en Angleterre pour 1905, *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, 1907, t. IV, p. 86.
 106. **Stevenson-Macadam.** — *Journ. de ph. et ch.*, t. XXX, p. 289.
 107. **Surre.** — *Bull. soc. chim. de France*, 20 juin 1902.
 108. **Tafel.** — *Pharm. Zeitung*, 1898, p. 786.
 109. **Tardieu (A.).** — Mémoire sur l'empoisonnement par la strychnine, *Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, 2^e série, 1856, t. VI, et 1857, t. VII.
 - 109bis. — *Etude sur l'empoisonnement*, p. 694.
 110. — *Etude sur l'empoisonnement*, p. 915, 1032.
 111. **Thibaut.** — *Des alcaloïdes des strychnées*, thèse d'agrégation, 1885-86.
 112. **Touchard.** — *La rivière du Gabon et ses maladies*, thèse méd. Montpellier, 1864.
 113. **Vadam.** — *Journ. de ph. et de ch.*, 6^e série, 1896, t. IV, p. 485 et 1897, t. V, p. 100.
 114. **Valser.** — Thèse de ph., Paris, 1862.
 - 114 bis. **Vitte.** — *Bull. soc. phie de Bordeaux*, 1931, 69, p. 279.
 115. **Vogt.** — *Les poisons de flèche et les poisons d'épreuve des indigènes de l'Afrique*, thèse de ph. de Paris, 1912.
 116. **Von Senkowsky.** — *Ann. de ch. analy.*, 1898, p. 357.
 - 116 bis. **Vulpian.** *Études sur la strychnine*, 1882.
 117. **Ward (J.-C.) et Munch (J.-C.).** — *Journ. amer. pharm. assoc.*, 1930, t. XIX, p. 954 et 1057.
 118. **Wenzell.** — *Fresen Zeit.*, t. X, p. 226.
-

BORDEAUX. - Imprimerie J. BIÈRE, 18-20-22, rue du Peugue, 1935
